

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik Innenstadt
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Wolf Mutschler

Charakterisierung des Modells der Dextransulfat induzierten Colitis der BALB/c-Maus

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Florian Schnabel

aus
München

2010

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. Matthias Siebeck
	Priv.-Doz. Dr. med. Christian Rust
Mitberichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. med. Hauke Winter
	Priv.-Doz. Dr. med. Max Schnurr
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Priv.-Doz. Dr. med. Philipe Khalil
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR
Tag der mündlichen Prüfung:	11.11.2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	3
2.1	Versuchstiere	3
2.2	Haltungsbedingungen	3
2.3	Käfigsysteme	3
2.4	Tierversuchsantrag	4
2.5	Dextransulfat (DSS)	4
2.6	Tötung der Versuchstiere	5
2.7	Gewinnung und Aufbereitung von Gewebematerial	5
2.8	Klinische und histologische Einstufung der Colitisaktivität	6
2.9	Körpergewicht	6
2.10	Stuhl	7
2.11	Trinkmenge	7
2.12	Urinmenge	7
2.13	Berechnung der DSS-Schwellendosis	7
2.14	Induktion der Colitis	8
2.15	Statistik	8
3	Ergebnisse	9
3.1	Colonlänge	9
3.2	DSS-Dosis	11
3.3	Milzgewicht	14
3.4	Disease Activity Index	15
3.5	Histologie	19
3.6	Überleben	22
3.7	Körpergewicht	23
3.8	Trinkwasserkonsum	27
3.9	Urinproduktion	29
4	Diskussion	31
4.1	Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen	31
4.2	Tiermodelle für chronisch entzündliche Darmerkrankungen	34
4.3	Wirkungsweise von DSS	35
4.4	Molekulargewicht	36
4.5	Empfindlichkeit verschiedener Mausstämme gegenüber DSS	37
4.6	DSS-Konzentration und kumulative DSS-Dosis	37
4.7	Überleben	39
4.8	Disease Activity Index (DAI)	40
4.9	Histologie	41
4.10	Colonlänge	42
4.11	Körpergewicht	42
4.12	Milzgewicht	43
4.13	Trinkwasserkonsum	44
4.14	Urinausscheidung	44
5	Zusammenfassung	45

6	Referenzliste	47
7	Anhang	51
7.1	Körpergewicht	51
7.2	Gewichtszuwachs	51
7.3	Colonlänge	54
7.4	Disease Activity Index	57
7.5	Histologischer Entzündungsscore	60
7.6	Histologischer Gewebeschadenscore	67
7.7	DSS-Dosis	74
7.8	Milz	76
7.9	Trinkwasserkonsum	79
7.10	Urinausscheidung	82
8	Danksagung	85
9	Lebenslauf	86

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Stoffwechselkäfig.....	4
Abbildung 2: Struktur eines Dextransulfatmoleküls.....	5
Abbildung 3: Abnahme der Colonlänge in Abhängigkeit der DSS-Konzentration.....	10
Abbildung 4: Makroskopische Colonveränderungen.....	11
Abbildung 5: DSS-Schwellendosis	12
Abbildung 6: DSS-Gesamtdosis bei einer DSS-Konzentration von 1%	13
Abbildung 7: DSS-Gesamtdosis bei einer DSS-Konzentration von 3%	13
Abbildung 8: DSS-Gesamtdosis bei einer DSS-Konzentration von 5%	14
Abbildung 9: Veränderungen des Milzgewichtes in Abhängigkeit der DSS-Konzentration	15
Abbildung 10: Disease Activity Index in Abhängigkeit der DSS-Konzentration	16
Abbildung 11: Korrelation des Disease Activity Index mit der Colonlänge.....	17
Abbildung 12: Korrelation des Disease Activity Index mit dem Milzgewicht	17
Abbildung 13: Korrelation des DAI mit dem histologischen Entzündungsscore.....	18
Abbildung 14: Korrelation des DAI mit dem histologischen Gewebeschadenscore	19
Abbildung 15: Histologischer Entzündungsscore in Abhängigkeit der Lokalisation.....	20
Abbildung 16: Histologischer Gewebeschadenscore in Abhängigkeit der Lokalisation.....	20
Abbildung 17: Histologischer Entzündungsscore in Abhängigkeit der Lokalisation und DSS-Konzentration..	21
Abbildung 18: Histologischer Gewebeschadenscore in Abhängigkeit der Lokalisation und DSS-Konzentration	22
Abbildung 19: Überleben in Abhängigkeit der DSS-Konzentration	23
Abbildung 20: Körpergewicht in Abhängigkeit der DSS-Konzentration.....	24
Abbildung 21: Zyklische Schwankungen des Körpergewichtes	25
Abbildung 22: Zyklische Schwankungen des Körpergewichtes in Abhängigkeit der DSS-Konzentration und der Zeit.....	26
Abbildung 23: Prozentualer Zuwachs des Körpergewichts in Abhängigkeit der DSS-Konzentration.....	27
Abbildung 24: Trinkwasserkonsum in Abhängigkeit der DSS-Konzentration.....	28
Abbildung 25: Urinmenge in Abhängigkeit der DSS-Konzentration	29
Abbildung 26: Zyklische Schwankungen der Urinausscheidung.....	30

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Disease Activity Index (nach Cooper <i>et al.</i> ¹²).....	6
Tabelle 2: Histologischer Entzündungs- und Gewebeschadensscore.....	6
Tabelle 3: Körpergewicht in Abhängigkeit der DSS-Konzentration.....	24
Tabelle 4: Prozentualer Gewichtszuwachs in Abhängigkeit der DSS-Konzentration	27
Tabelle 5: Trinkwasserkonsum in Abhängigkeit der DSS-Konzentration.....	28
Tabelle 6: Urinmenge in Abhängigkeit der DSS-Konzentration	29

1 Einleitung

In der gegenwärtigen Literatur sind eine Vielzahl experimenteller Modelle zur Induktion chronisch entzündlicher Darmerkrankungen beschrieben. Die Unterschiede liegen dabei im Wesentlichen in der verwendeten Spezies und der krankheitsauslösenden Substanz. Eines dieser Modelle, das zugleich auch die Grundlage unserer Experimente bildet, ist das von Okayasu *et al.*⁴⁴ entwickelte Modell der Dextransulfat (DSS) induzierten Colitis der Maus. Dieses Modell basiert auf einer zyklischen Verabreichung von im Trinkwasser gelösten DSS und ermöglicht über bislang noch ungeklärte Mechanismen die Induktion einer Colitis, deren klinisches und histologisches Bild nahezu identisch mit den Eigenschaften der menschlichen Form der Erkrankung ist. Nicht zuletzt aufgrund seiner Kosteneffizienz und der vergleichsweise einfachen Durchführbarkeit fand es weite Verbreitung bei Versuchen zur Klärung der Pathogenese und der Erprobung neuer Ansätze zur Therapie chronisch entzündlicher Darmerkrankungen.

Trotz zahlreicher Studien ist der gegenwärtigen Literatur keine einheitliche Empfehlung zur korrekten Anwendung des DSS-Modells im Sinne einer zuverlässigen Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit der Resultate zu entnehmen. Insbesondere finden sich kaum Anhaltspunkte, wie eine Colitis mit zuvor definiertem Aktivitätsgrad mittels des DSS-Modells zu induzieren ist. In bisherigen Veröffentlichungen liegt der Schwerpunkt zumeist auf therapeutischen Ansätzen, wobei auf die Wahl bestimmter Rahmenbedingungen zur Induktion der Erkrankung kaum eingegangen wurde. Darüber hinaus stellt sich die Frage, wie wahrscheinlich das Auftreten einer manifesten Colitis mit allen charakteristischen Ausprägungsmerkmalen unter den vorgegebenen Bedingungen tatsächlich ist.

Aus dieser Problematik ergab sich die Zielsetzung unserer Studie zur Charakterisierung des DSS-induzierten Colitismodells der BALB/c-Maus.

Unter sorgfältig ausgewählten Rahmenbedingungen wurde in unseren Versuchen die Auswirkung von Veränderungen bestimmter unabhängiger Variablen auf definierte Zielkriterien zur Beschreibung der Colitisaktivität untersucht.

Wie bereits zuvor beschrieben, sind die zwei entscheidenden unabhängigen Variablen im DSS-Modell:

*die Konzentration der verabreichten DSS-Lösung und
die Dauer der zyklischen Verabreichung.*

Die Auswirkung von Änderungen dieser unabhängigen Variablen auf bestimmte abhängige Variablen, die aufgrund ihrer Spezifität Rückschlüsse auf die Aktivität der Erkrankung erlauben, wurden in unserer Studie untersucht.

Die abhängigen Variablen und Gegenstand unserer Messungen waren sowohl die typischen klinischen Zeichen einer Colitis, als auch makroskopische und histologische Veränderungen wie:

*Veränderungen des Körpergewichtes,
Vorhandensein von Blut im Stuhl,*

*Veränderungen der Stuhlbeschaffenheit,
Reduktion der Colonlänge,
histologische Veränderungen des Colons,
Milzgewicht,
Trinkwasserkonsum,
sowie Urinausscheidung.*

Die Stuhlbeschaffenheit, das Vorhandensein von Blut im Stuhl und ein möglicher Gewichtsverlust wurden ergänzend in einem von Cooper *et al.*¹² beschriebenen Score-System (Disease Activity Index) zusammengefasst, das eine genaue Einstufung des Aktivitätsgrades einer Colitis erlaubt. Die histologischen Veränderungen des Colons wurden ebenfalls durch ein geeignetes Score-System abgebildet, um eine Quantifizierung für Vergleichszwecke vornehmen zu können. Zur Minimierung möglicher Fehlerquellen und insbesondere zur Berechnung kumulativer Dosen erfolgte eine Flüssigkeitsbilanzierung, die durch die Haltung der Versuchstiere in speziellen Stoffwechselkäfigen möglich wurde. Mittels Verwendung unterschiedlicher Konzentrationen der DSS-Lösung, Verabreichung der Substanz über unterschiedlich lange Zeiträume und der, verglichen mit bisherigen Studien hohen Fallzahl, gelang eine detaillierte Charakterisierung des DSS-Modells für BALB/c-Mäuse.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere

Zur Durchführung der Versuche wurden 114 konventionelle BALB/c Mäuse weiblichen Geschlechts (Harlan Winkelmann GmbH, Borcheln, Deutschland) beschafft. Das Alter der Tiere lag bei Anlieferung zwischen 6 und 8 Wochen, bei einem durchschnittlichen Körpergewicht von 20 Gramm. Zur Akklimatisierung, sowie zum Ausschluß von eventuell bestehenden Infektionserkrankungen, wurden die Tiere zunächst eine Woche lang beobachtet und anschließend in den Versuch übernommen. Um Verwechslungen auszuschließen, wurde jedes Tier nach einem definierten Schema mit wasserfestem Markierungsstift am Schwanz eindeutig gekennzeichnet.

2.2 Haltungsbedingungen

Alle Tiere wurden in offenen Käfigsystemen in der Tierhaltung des Institutes für Pharmakologie und Toxikologie der LMU München gehalten. Die Luftfeuchtigkeit in den Räumlichkeiten betrug $55 \% \pm 10 \%$, bei einer Raumtemperatur von $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Durch künstliche Beleuchtung wurde ein zwölfstündiger Tag-Nacht-Rhythmus erzeugt. Es wurden jeweils drei Tiere in einem Käfig gehalten. Als Trinkwasser wurde unbehandeltes Leitungswasser oder DSS-Lösung in einer entsprechenden Konzentration dargeboten. Um bakterieller Kontaminierung entgegenzuwirken, erfolgte mindestens ein wöchentlicher Austausch sowie die Reinigung der. Als Futter wurde unbehandeltes Standardmäusefutter (ssniff R/M-H[®], ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) verwendet. Alle Tiere hatten stets uneingeschränkten Zugang zu Futter und Trinkwasser oder DSS-Lösung.

2.3 Käfigsysteme

Die Tiere wurden zunächst in Typ III Makrolonkäfigen mit Edelstahlgitterabdeckung (Tecniplast S.p.a., Buguggiate, Italien) gehalten. Der Boden der Makrolonkäfige wurde mit rindenfreiem Faserstreu ausgelegt. Für die letzten zwei Zyklen vor Tötung erfolgte die Umsiedlung in Stoffwechselkäfige (Tecniplast S.p.a., Buguggiate, Italien). Tiere, die nur einen Versuchszyklus absolvierten, wurden von Beginn an in Stoffwechselkäfigen gehalten. Die Bauweise der Stoffwechselkäfige ermöglicht das Sammeln von Stuhl, Urin sowie von den Tieren verworfenes Futter und Trinkwasser in separaten Behältnissen zum Zwecke der exakten Bilanzierung. Der Aufbau und die Funktionsweise eines Stoffwechselkäfigs sind in Abbildung 1 dargestellt. Sowohl die Stoffwechsel-, als auch die Makrolonkäfige wurden wöchentlich ausgetauscht und gereinigt. Die Sammelbehälter der Stoffwechselkäfige wurden alle zwei Tage entleert und deren Inhalt nach Messung verworfen.

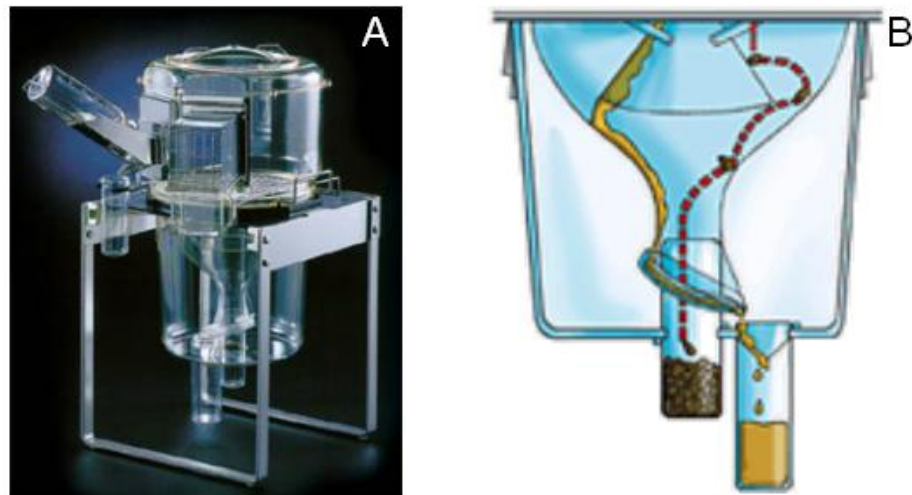


Abbildung 1: Stoffwechselkäfig

A: Stoffwechselkäfig der Firma Tecniplast S.p.a. (Buguggiate, Italien) zur Haltung von Mäusen. **B:** Schematische Darstellung der Funktionsweise der unteren Einheit eines Stoffwechselkäfigs. Die Konstruktion des Käfigs ermöglicht eine zuverlässige Trennung von Stuhl und Urin in separate abnehmbare Behälter.

2.4 Tierversuchsantrag

Für die im Rahmen der Studie durchgeführten Versuche wurde nach § 8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes für die Bundesrepublik Deutschland (BGBl. 1986) ein Tierversuchsantrag von der Regierung von Oberbayern genehmigt.

2.5 Dextransulfat (DSS)

Dextransulfat ist ein Natriumsalz, das durch Veresterung von Dextran mit Chlorschwefelsäure erzeugt wird. Der Schwefelgehalt dieser Substanz variiert zwischen 15 % und 20 %, entsprechend 1,9 Sulfatgruppen pro Glykosylrest. Die Struktur von Dextransulfat ist in Abbildung 2 dargestellt. DSS liegt als geruchloses, weißes bis weißgelbliches, wasserlösliches Pulver mit leicht salzigem Geschmack vor. Zur Durchführung der Versuche wurde DSS mit einem durchschnittlichen Molekulargewicht von 40.000

Dalton (MP Biomedicals, Heidelberg, Deutschland) verwendet. Um Schwankungen des Schwefelgehaltes ausschließen zu können, wurde ausschließlich auf DSS aus ein und derselben Charge zurückgegriffen. Zur Herstellung einer DSS-Lösung von 1 % wurden 10 g DSS in 1 l unbehandeltem Leitungswasser gelöst. Entsprechend wurde bei der Herstellung der Lösung in den Konzentrationen 3 % und 5 % verfahren, wobei jeweils 30 g (DSS 3%) oder 50 g (DSS 5%) DSS in 1 l Leitungswasser gelöst wurden. Die DSS-Lösung wurde für jeden Zyklus neu angesetzt und nach spätestens 7 Tagen verworfen.

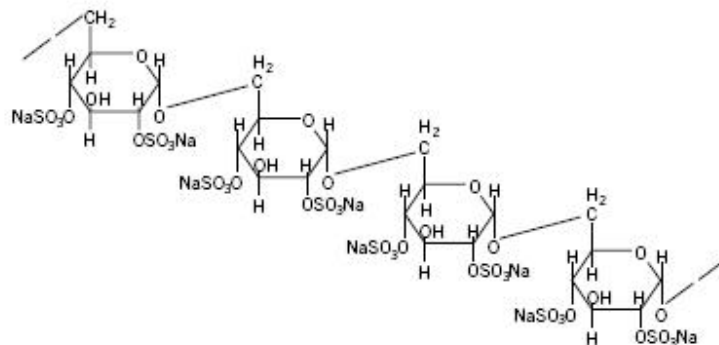


Abbildung 2: Struktur eines Dextransulfatmoleküls

2.6 Tötung der Versuchstiere

Nach dem die Mäuse eine vorgegebene Anzahl an Versuchszyklen absolviert hatten, wurden sie durch zervikale Dislokation getötet. Diese Methode steht in Einklang mit dem Tierschutzgesetz der Bundesrepublik Deutschland und ist dazu geeignet, den Tod einer Maus in Sekundenbruchteilen herbeizuführen.

2.7 Gewinnung und Aufbereitung von Gewebematerial

Unmittelbar nach dem Ableben der Maus wurde das Abdomen längs eröffnet, das Colon in seiner gesamten Länge freipräpariert und entnommen. Anschließend wurde das Colonpräparat vorsichtig mit 0.9 % NaCl-Lösung gespült, ohne Dehnung auf Filterpapier ausgelegt und mit einem Lineal vermessen. Die Milz der Maus wurde ebenfalls entnommen und das Gewicht mit einer Präzisionswaage festgestellt. Bis zum Zeitpunkt der histologischen Untersuchung wurde das gesamte Colon in 3.7 % Formaldehydlösung fixiert, anschließend erfolgte die Einbettung in Paraffin. Von jedem Colonabschnitt wurden Serienschnitte mit einer Schichtdicke von 1 bis 2 μm angefertigt. Die einzelnen Schnitte wurden zur Entfernung des Paraffins in Xylol gewaschen, in einer absteigenden Ethanolreihe entwässert und mit Hämatoxylin-Eosin eingefärbt. Die histologische Begutachtung der Präparate erfolgte durch zwei voneinander unabhängige Pathologen, denen die Zugehörigkeit der einzelnen Gewebeproben nicht bekannt war.

2.8 Klinische und histologische Einstufung der Colitisaktivität

Die klinische Einstufung der Colitisaktivität erfolgte durch den von Cooper *et al.*¹² beschriebenen Disease Activity Index (DAI). Der DAI setzt sich aus den einzeln vergebenen Punktzahlen für den prozentualen Verlust an Körpergewicht, die Beschaffenheit des Stuhls, sowie das Ergebnis eines Test auf okkultes Blut im Stuhl zusammen. Die Einzelpunktzahlen werden addiert und die Gesamtsumme durch 3 dividiert, woraus eine maximal erreichbare Punktzahl von 4 resultiert. Die genaue Zusammensetzung des DAI ist in Tabelle 1 dargestellt. Der DAI wurde für jedes Tier in den letzten zwei Zyklen vor Tötung, jeweils an den Zyklostagen 1, 7 und 17 erhoben. Bei Tieren, die lediglich einen Versuchszyklus absolvierten, wurde der DAI für diesen Zyklus ebenfalls an den Zyklostagen 1, 7 und 17 bestimmt.

Punktzahl	0	1	2	3	4
Gewichtsverlust	0%	< 5%	5 - 10%	10 - 20%	> 20%
Stuhlbeschaffenheit	geformt		breiig		flüssig
Blut im Stuhl	negativer Guajak-Test		positiver Guajak-Test		sichtbare Blutung

Tabelle 1: Disease Activity Index (nach Cooper *et al.*¹²)

Bei der histologischen Einstufung wurde zwischen Entzündungszeichen und Gewebeschaden differenziert. Für beide Eigenschaften wurden, abhängig vom Ausprägungsgrad, jeweils 0 bis 3 Punkte vergeben. Jeder Colonabschnitt wurde einzeln nach diesen beiden Kriterien bewertet. Die Berechnung der histologischen Scores ist in Tabelle 2 dargestellt.

Punktzahl	0	1	2	3
Infiltration mit Entzündungszellen	Kaum in Lamina propria	Zunehmend in Lamina propria	Konfluenz bis Submukosa	Transmural
Gewebeschaden	Keiner	Lymphoepitheliale Läsionen	Erosionen der Mukosa	Tiefere Wandschichten

Tabelle 2: Histologischer Entzündungs- und Gewebeschadenscore

2.9 Körpergewicht

Die Messung des Körpergewichtes erfolgte alle zwei Tage, über den gesamten Versuchszeitraum. Zu diesem Zweck wurde jedes Tier einzeln mit einer Präzisionswaage gewogen und das Körpergewicht registriert. Anschließend wurde die prozentuale Veränderung des Körpergewichtes errechnet. Als Referenzwert diente hierbei das Körpergewicht des jeweiligen Tieres bei der Messung am ersten Versuchstag.

2.10 Stuhl

Die Stuhlmenge wurde an den Versuchstagen 1, 7 und 17 innerhalb der letzten zwei Versuchszyklen gemessen, da die Tiere nur in diesem Zeitraum in Stoffwechselkäfigen gehalten wurden. Hierfür wurde das Naßgewicht des gesammelten Stuhls für jeden Stoffwechselkäfig mit einer Präzisionswaage im Abstand von zwei Tagen registriert. Da jeder Käfig mit drei Tieren belegt war, wurde der Wert des Stuhlgewichtes durch 3 dividiert und der resultierende Mittelwert für weitere Berechnungen verwendet. Die Beurteilung der Stuhlbeschaffenheit, sowie die Durchführung eines Tests auf okkultes Blut im Stuhl fanden zu den gleichen Zeitpunkten wie die Messung des Stuhlgewichtes statt. In Bezug auf die Stuhlbeschaffenheit wurde zwischen geformtem, breiigem und flüssigem Stuhl unterschieden. Dazu wurde jedes Tier einzeln aus seinem Käfig entnommen, kurzzeitig in einem Makrolonkäfig isoliert und, falls erforderlich, durch leichte manuelle Stimulation zum Absetzen von Stuhl bewegt, dessen Beschaffenheit visuell begutachtet wurde. Mit dem frischgewonnenen Stuhl wurde anschließend ein Guajak-Test auf okkultes Blut (hemoCARE, CARE diagnostica GmbH, Voerde, Deutschland) durchgeführt.

2.11 Trinkmenge

Die von den Tieren konsumierte Menge an Trinkwasser oder DSS-Lösung wurde über die gesamte Versuchsdauer jeden zweiten Tag registriert. Für jeden Käfig war eine 250 ml Trinkflasche vorhanden, an der mittels einer aufgetragenen Skala das vorhandene Volumen in Millilitern abgelesen werden konnte. Das innerhalb von zwei Tagen konsumierte Volumen pro Tier wurde aus der Differenz der gegenwärtigen Füllmenge und der Füllmenge der vorangegangenen Messung berechnet und der Wert durch 3 dividiert. Dies ergab einen Mittelwert für jedes Tier, der für alle weiteren Berechnungen verwendet wurde.

2.12 Urinmenge

Ebenso wie die Stuhlmenge, wurde auch die produzierte Urinmenge während der letzten zwei Zyklen, jeweils an den Zyklustagen 1, 7 und 17 gemessen. In jedem Stoffwechselkäfig befand sich ein Auffangbehälter für Urin, an dem eine Skala aufgebracht war, anhand derer sich das Urinvolumen in Millilitern ablesen lies. Nach der Registrierung des Volumens wurde der Wert durch 3 dividiert, so daß sich für jedes Tier ein Mittelwert ergab. Der Urin wurde anschließend verworfen.

2.13 Berechnung der DSS-Schwellendosis

Die Schwellendosis stellt die insgesamt während der ersten sieben Versuchstage aufgenommene Menge an DSS, bezogen auf das Körpergewicht, dar. Diese kumulative Dosis wurde anhand der Trinkmenge, der verabreichten DSS-Konzentration, sowie dem Körpergewicht am ersten Versuchstag für jedes Tier individuell berechnet.

2.14 Induktion der Colitis

Das zur Induktion der Colitis erforderliche Dextransulfat wurde zyklisch über das Trinkwasser verabreicht. Die Dauer jedes Zyklus betrug 17 Tage. An den Tagen 1 bis 7 wurde DSS-Lösung verabreicht, während der verbleibenden 10 Tage erhielten die Tiere unbehandeltes Leitungswasser. Tiere der Vergleichsgruppe erhielten über die gesamte Zyklusdauer reines Wasser. Aus insgesamt 114 Tieren wurden zunächst 4 Gruppen gebildet, von denen eine Gruppe H₂O (n = 6), die anderen Gruppen DSS in einer Konzentration von 1 % (n = 36), 3 % (n = 36), oder 5 % (n = 36) erhielten. Für jede Gruppe einer bestimmten Konzentration wurden 4 Untergruppen gebildet, die sich dadurch unterschieden, daß jede Gruppe (DSS: n = 9; H₂O: n = 2) entweder über 1, 3, 5, oder 7 Zyklen beobachtet wurde. Nach dem Erreichen der vorgegebenen Anzahl an Zyklen, wurden die Tiere getötet und Gewebematerial zur Histologiegewinnung entnommen.

2.15 Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mittels der Software SPSS (Version 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Zur Erstellung der Grafiken wurde das Softwarepaket Origin Pro (Version 6.1, Origin Lab, Northhampton, MA, USA) verwendet. Die Rohdaten wurden initial einer Prüfung auf Normalverteilung unterzogen. Sämtliche Ergebnisse sind als Mittelwert \pm Standardfehler angegeben. Bei dem Vergleich von Mittelwerten wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.05$ statistische Signifikanz angenommen. Die Messwerte unterschiedlicher Gruppen wurden durch univariate Varianzanalyse oder ein allgemeines lineares Modell verglichen und die Überlebensdauer jedes Tieres, falls erforderlich, als Kovariate in die Berechnung einbezogen. Bei Mehrfachmessungen wurde eine univariate Varianzanalyse für wiederholte Messungen durchgeführt. Überlebenszeiten wurden durch Kaplan-Meier-Analyse ausgewertet und unterschiedliche Gruppen mittels Log-Rank-Test verglichen. Zur Berechnung von Korrelationen wurde die lineare Regression verwendet.

3 Ergebnisse

3.1 Colonlänge

Die Colonlänge wurde nach Tötung der Versuchstiere am frisch entnommenen Präparat gemessen. Beim Vergleich der Gruppenmittelwerte zeigte sich eine zeitunabhängige, konzentrationsbedingte Reduktion der Colonlänge in allen Gruppen, denen DSS verabreicht wurde. Die höchsten Werte erreichte die Vergleichsgruppe, die normales H₂O erhielt, mit 16.600 ± 0.683 cm (n = 6). Die Colonlängen der DSS-Gruppen fielen mit 12.572 ± 0.279 cm (DSS 1%, n = 36), 10.268 ± 0.301 cm (DSS 3%, n = 31) und 9.489 ± 0.316 cm (DSS 5%, n = 28) deutlich kürzer aus. Zwischen den einzelnen Gruppen bestanden mit Ausnahme des Vergleiches der Gruppen DSS 3% und DSS 5% ($p = 0.465$) statistisch signifikante Unterschiede ($p < 0.001$).

Unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer war innerhalb der DSS-Gruppen neben der konzentrationsabhängigen auch eine zeitbedingte Reduktion der Colonlänge zu verzeichnen. Bei Tieren der H₂O-Gruppe nahm die Colonlänge mit steigender Zykluszahl zu, wobei der Vergleich innerhalb dieser Gruppe keine statistische Signifikanz erreichte. Ebenfalls nach Zyklen unterteilt ergaben sich für die DSS 1% Gruppe folgende Mittelwerte: 14.633 ± 0.289 cm (1 Zyklus, n = 9), 13.011 ± 0.288 cm (3 Zyklen, n = 9), 11.489 ± 0.469 cm (5 Zyklen, n = 9) und 11.156 ± 0.232 cm (7 Zyklen, n = 9). Zwischen dem 5. und 7. Zyklus blieb eine statistisch signifikante Verkürzung des Colons aus ($p = 1.000$). Der Vergleich der übrigen DSS 1% Gruppen erwies sich jedoch als statistisch signifikant (1 Z. / 3 Z. : $p = 0.006$, 1 Z. / 5 bzw. 7 Z. : $p < 0.001$, 3 Z. / 5 Z. : $p = 0.011$, 3 Z. / 7 Z. : $p < 0.001$). In der DSS 3% Gruppe nahm die Colonlänge ebenfalls mit ansteigender Zykluszahl ab, wobei die Verkürzung des Colons zwischen 1 und 3 Zyklen, sowie zwischen 5 und 7 Zyklen nicht ($p = 1.000$), zwischen den übrigen Gruppen jedoch statistisch signifikant war ($p < 0.001$). Die Mittelwerte der DSS 3% Gruppe stellten sich wie folgt dar: 12.244 ± 0.289 cm (1 Zyklus, n = 9), 11.156 ± 0.288 cm (3 Zyklen, n = 9), 8.538 ± 0.498 cm (5 Zyklen, n = 8) und 7.880 ± 0.433 cm (7 Zyklen, n = 5).

Die Mittelwerte der DSS 5% Gruppe betrugen 9.644 ± 0.289 cm (1 Zyklus, n = 9), 9.144 ± 0.288 cm (3 Zyklen, n = 9) und 9.660 ± 0.445 cm (5 Zyklen, n = 10).

Da die Colonlänge innerhalb dieser Gruppe kaum variierte, konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede registriert werden ($p = 1.000$).

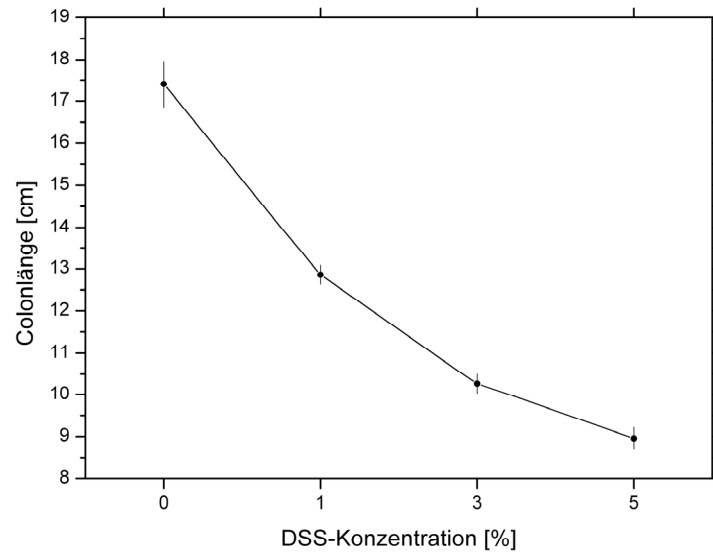


Abbildung 3: Abnahme der Colonlänge in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Dargestellt sind die Mittelwerte der Colonlänge (\pm Standardfehler) für unterschiedliche DSS-Konzentrationen. Der Zeitfaktor ist nicht berücksichtigt. Abhängig von der Höhe der DSS-Konzentration erfolgte eine zunehmende Verkürzung des Colons .

**Abbildung 4: Makroskopische Colonveränderungen**

Abgebildet sind zwei Colonpräparate, einschließlich Coecum und Rectum. Präparat A stammt von einem Versuchstier, das der Kontrollgruppe angehörte und normales Trinkwasser über fünf Zyklen erhielt. Präparat B hingegen stammt von einer Maus, die DSS 3% über ebenfalls fünf Zyklen erhielt. Deutlich zu erkennen ist eine Verkürzung des Colons nach Verabreichung von DSS.

3.2 DSS-Dosis

Die DSS-Schwellendosis errechnet sich aus der Summe der Werte des Trinkwasserkonsums, der verabreichten DSS-Konzentration sowie dem Mittelwert des Körpergewichtes innerhalb der ersten 7 Versuchstage. Es handelt sich um eine kumulative Dosis, angegeben in mg DSS / g Körpergewicht. Mit zunehmender DSS-Konzentration stieg diese statistisch signifikant an ($p < 0.001$). Den niedrigsten Wert erreichte die DSS 1% Gruppe mit 15.256 ± 1.531 mg/g KG ($n = 36$), gefolgt von der DSS 3% Gruppe mit 46.355 ± 1.531 mg/g KG ($n = 36$) und der DSS 5% Gruppe mit 62.380 ± 1.531 mg/g KG ($n = 36$).

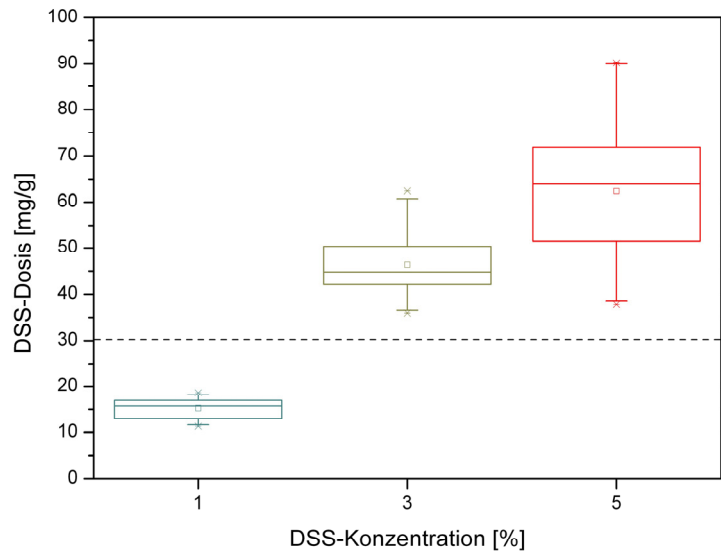


Abbildung 5: DSS-Schwellendosis

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der kumulativen DSS-Dosis, die während der ersten 7 Versuchstage in Abhängigkeit der DSS-Konzentration aufgenommen wurde. Die gestrichelte Linie markiert eine Dosischwelle bei 30 mg/g KG⁽⁵³⁾, deren Überschreitung zur Induktion einer Colitis erforderlich ist.

Bei der DSS-Gesamtdosis handelt es sich ebenfalls um eine kumulative Dosis, wobei die für jedes Tier im gesamten Beobachtungszeitraum konsumierte Menge an DSS, bezogen auf den Mittelwert des Körpergewichtes, errechnet wurde. Es zeigte sich eine von der Anzahl absolvierter Zyklen (1, 3, 5 oder 7 Zyklen) abhängige, lineare Zunahme der Gesamtdosis mit $r = 0.990$ und $r^2 = 0.981$ ($p < 0.001$) für die DSS 1% Gruppe ($n = 36$), $r = 0.928$ und $r^2 = 0.862$ ($p < 0.001$) für die DSS 3% Gruppe ($n = 36$), sowie $r = 0.694$ und $r^2 = 0.482$ ($p < 0.001$) für die DSS 5% Gruppe ($n = 36$).

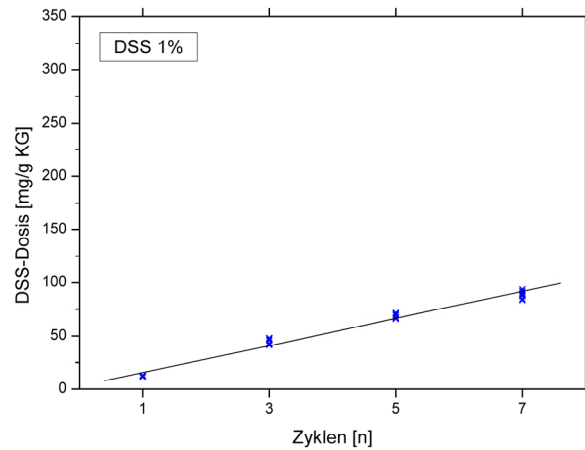


Abbildung 6: DSS-Gesamtdosis bei einer DSS-Konzentration von 1%

Abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der innerhalb einer bestimmten Anzahl von Zyklen aufgenommenen kumulativen DSS-Dosis bezogen auf das Körpergewicht. Deutlich ist an dieser Stelle ein linearer Zusammenhang zu erkennen.

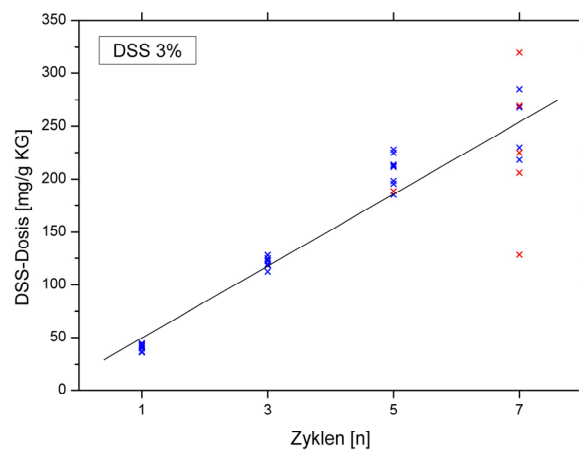


Abbildung 7: DSS-Gesamtdosis bei einer DSS-Konzentration von 3%

Abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der innerhalb einer bestimmten Anzahl von Zyklen aufgenommenen kumulativen DSS-Dosis bezogen auf das Körpergewicht. Die Werte vorzeitig verstorbener Tiere sind rot dargestellt. Auch in dieser Abbildung ist trotz zunehmender Streuung bei steigender Anzahl absolvierter Zyklen noch ein linearer Zusammenhang zu erkennen.

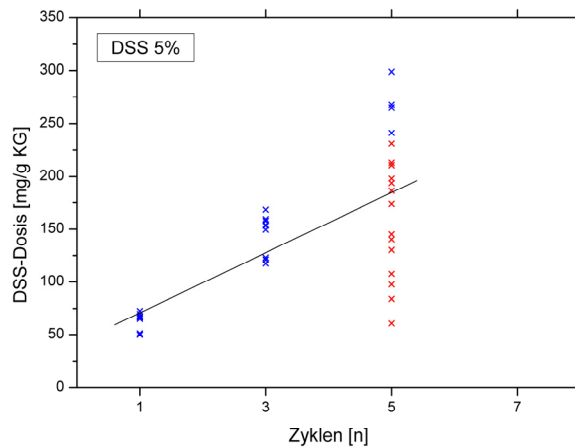


Abbildung 8: DSS-Gesamtdosis bei einer DSS-Konzentration von 5%

Abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der innerhalb einer bestimmten Anzahl von Zyklen aufgenommenen kumulativen DSS-Dosis bezogen auf das Körpergewicht. Die Werte vorzeitig verstorbener Tiere sind rot dargestellt. Während im Bereich zwischen 1 und 3 absolvierten Zyklen noch ein linearer Zusammenhang zu erkennen ist, findet zwischen dem 3 und 5 Zyklus keine signifikante Dosissteigerung statt. Auffallend ist zudem, daß innerhalb des fünften Zyklus eine hohe Mortalität auftritt.

Innerhalb der DSS 1% Gruppe nahm die Gesamtdosis von ersten bis zum siebten Zyklus zu. Die Mittelwerte der Gesamtdosis betrugen 12.088 ± 0.817 mg/g (1 Zyklus, $n = 9$), 44.503 ± 0.817 mg/g (3 Zyklen, $n = 9$), 69.254 ± 0.817 mg/g (5 Zyklen, $n = 9$), sowie 88.688 ± 0.817 mg/g (7 Zyklen, $n = 9$). Alle Unterschiede zwischen diesen Gruppen erreichten statistische Signifikanz ($p < 0.001$). Ähnlich verhielt sich die DSS 3% Gruppe, wobei zwischen dem fünften und siebten Zyklus keine signifikante Steigerung der Dosis erfolgte ($p = 0.140$). Für diese Gruppe ergaben sich folgende Mittelwerte: 40.035 ± 9.618 mg/g (1 Zyklus, $n = 9$), 121.793 ± 9.618 mg/g (3 Zyklen, $n = 9$), 206.428 ± 9.618 mg/g (5 Zyklen, $n = 9$) und 238.826 ± 9.618 mg/g (7 Zyklen, $n = 9$). Abgesehen von dem Vergleich der Gruppen, die 5 und 7 Zyklen DSS erhielten, waren sämtliche Unterschiede statistisch signifikant ($p < 0.001$). Bei Tieren, die DSS 5% erhielten, fand eine signifikante Steigerung der Dosis bis zum dritten Zyklus statt. Die Dosissteigerung zwischen dem dritten und fünften Zyklus erreichte keine statistische Signifikanz ($p = 0.279$). Nach einem Zyklus lag der Gruppenmittelwert bei 62.195 ± 16.634 mg/g ($n = 9$), nach drei Zyklen bei 144.960 ± 16.634 mg/g ($n = 9$), sowie nach fünf Zyklen bei 180.198 ± 11.762 mg/g ($n = 18$). Beim Vergleich der Gruppe, die einen Zyklus DSS erhielt, mit jenen Gruppen, die drei beziehungsweise fünf Zyklen DSS erhielten, zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede (1 Z. / 3 Z.: $p = 0.004$ und 1 Z. / 5 Z.: $p < 0.001$).

3.3 Milzgewicht

Abhängig von der DSS-Konzentration und ohne Berücksichtigung des Zeitfaktors nahm das Milzgewicht bis zu einer Konzentration von 3% grundsätzlich zu (H_2O : 115 ± 12 mg, $n = 6$; DSS 1%: 123 ± 5 mg, $n = 36$; DSS 3%: 158 ± 6 mg, $n = 31$; DSS 5%: 135 ± 6 mg, $n =$

31). Eine statistisch signifikante Steigerung des Milzgewichtes zeigte jedoch nur der Vergleich der DSS 3% Gruppe mit den übrigen Gruppen (DSS 3% / H₂O: $p = 0.013$, DSS 3% / DSS 1%: $p < 0.001$, DSS 3% / DSS 5%: $p = 0.026$). Während die Anzahl der Zyklen innerhalb der H₂O und der DSS 5% Gruppe keine Auswirkung auf das Milzgewicht hatte, zeigte sich in den Gruppen DSS 1% und DSS 3% eine zeitabhängige Zunahme. Der Mittelwert der DSS 1% Gruppe war nach 7 Zyklen (142 ± 9 mg), im Vergleich zu einem Zyklus (102 ± 9 mg), deutlich höher ($p = 0.029$). Innerhalb der DSS 3% Gruppe fand eine Steigerung zwischen dem ersten und dem fünften (1. Zyklus: 121 ± 10 mg, 5. Zyklus: 174 ± 10 mg; $p = 0.006$), sowie zwischen dem ersten und siebten Zyklus (1. Zyklus: 121 ± 10 mg, 7. Zyklus: 198 ± 13 mg; $p < 0.001$) statt.

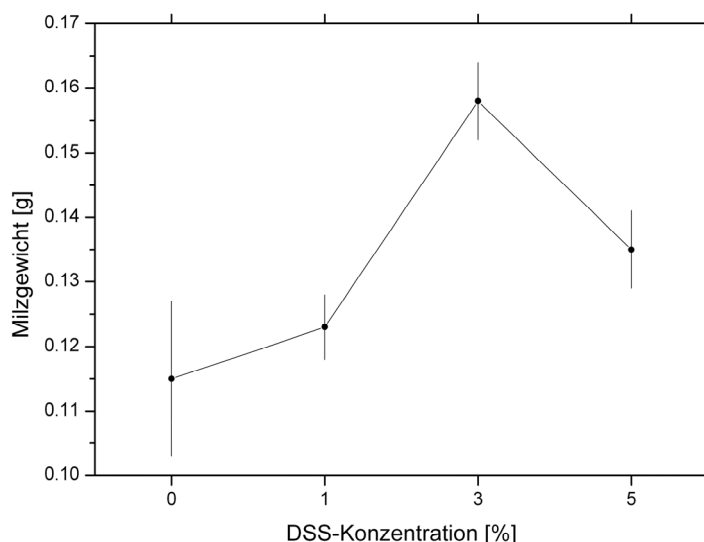


Abbildung 9: Veränderungen des Milzgewichtes in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des Milzgewichtes in Abhängigkeit der verabreichten DSS-Konzentration. Mit zunehmender DSS-Konzentration ist ein Anstieg des Milzgewichtes zu beobachten. Der vergleichsweise niedrige Wert bei einer DSS-Konzentration von 5% ist durch die hohe Sterblichkeit in diesem Konzentrationsbereich verfälscht.

3.4 Disease Activity Index

Die Berechnung des Disease Activity Index erfolgte bei allen Gruppen, mit Ausnahme der Tiere, die nur einen Versuchszyklus absolvierten, für die letzten beiden Zyklen vor Tötung, jeweils an den Zyklastagen 1, 7 und 17.

Die Mittelwerte des DAI zeigten eine Abhängigkeit von der verabreichten DSS-Konzentration. Während die H₂O Gruppe minimal erhöhte DAI-Werte aufwies (0.01 ± 0.132 , $n = 6$), stieg dieser bei allen Tieren, die DSS erhielten an (DSS 1%: 0.185 ± 0.064 , $n = 36$; DSS 3%: 1.215 ± 0.056 , $n = 34$; DSS 5%: 0.987 ± 0.062 , $n = 27$). Zwischen der H₂O

und der DSS 1%, sowie zwischen der DSS 3% und der DSS 5% Gruppe bestand kein statistisch signifikanter Unterschied ($p = 1.000$, bzw. $p = 0.244$). Alle übrigen Gruppenvergleiche erreichten statistische Signifikanz ($p < 0.001$).

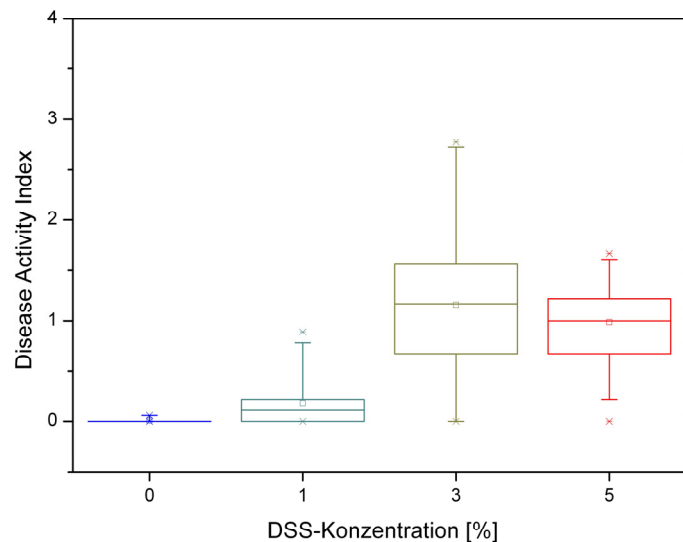


Abbildung 10: Disease Activity Index in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des Disease Activity Index (DAI) bezogen auf die unterschiedlichen DSS-Konzentrationen. Vorzeitig verstorbene Tiere konnten nicht berücksichtigt werden. Die Höhe des DAI nimmt mit ansteigender DSS-Konzentration zu, wobei die Ergebnisse im Bereich von 5% DSS aufgrund erhöhter Sterblichkeit verzerrt sind.

Desweiteren konnte ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem DAI und der Colonlänge, sowie dem DAI und dem Milzgewicht nachgewiesen werden. Die Mittelwerte der Colonlänge aller Versuchsgruppen korrelierte negativ mit den Mittelwerten des DAI ($r = -0.837$, $r^2 = 0.700$, $p < 0.001$, $n = 111$), eine positive Korrelation zeigte sich hingegen bezüglich der Mittelwerte des Milzgewichtes ($r = 0.816$, $r^2 = 0.667$, $p < 0.001$, $n = 104$).

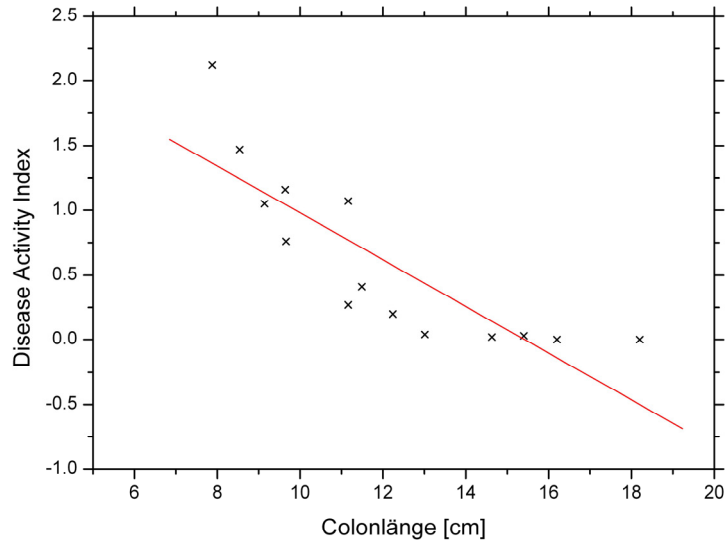


Abbildung 11: Korrelation des Disease Activity Index mit der Colonlänge

Dargestellt ist die annähernd lineare Beziehung zwischen den Mittelwerten der Colonlänge und der Höhe des DAI, unabhängig von der DSS-Konzentration und Anzahl der Zyklen. Es besteht eine deutliche Korrelation ($r^2 = 0.700$).

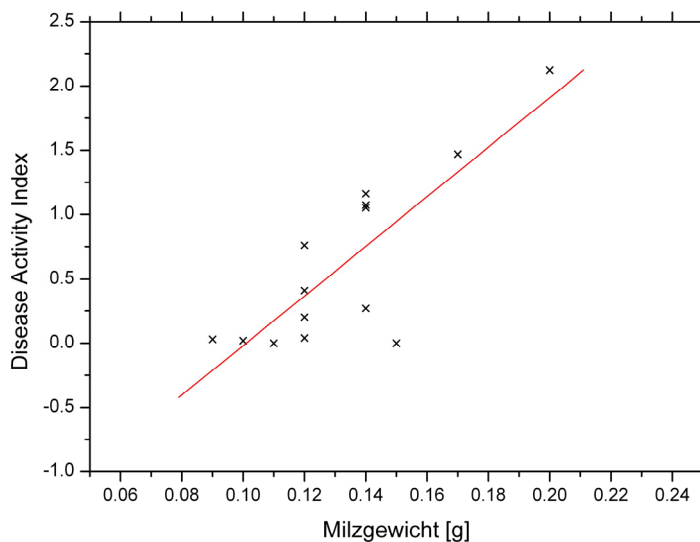


Abbildung 12: Korrelation des Disease Activity Index mit dem Milzgewicht

Dargestellt ist die annähernd lineare Beziehung zwischen den Mittelwerten des Milzgewichtes und der Höhe des DAI, unabhängig von der DSS-Konzentration und Anzahl der Zyklen. Auch bezüglich dieser Parameter besteht eine deutliche Korrelation ($r^2 = 0.667$).

Zwischen dem DAI und dem histologischen Entzündungs-, sowie dem histologischen Gewebeschadensscore war ebenfalls ein statistisch signifikanter Zusammenhang zu verzeichnen. Die Mittelwerte des DAI korrelierten sowohl mit den Mittelwerten des Entzündungsscores ($r = 0.836$, $r^2 = 0.700$, $p = 0.001$, $n = 111$), als auch den Mittelwerten des Gewebeschadenscores ($r = 0.857$, $r^2 = 0.706$, $p = 0.001$, $n = 111$), jeweils auf alle Colonabschnitte bezogen.

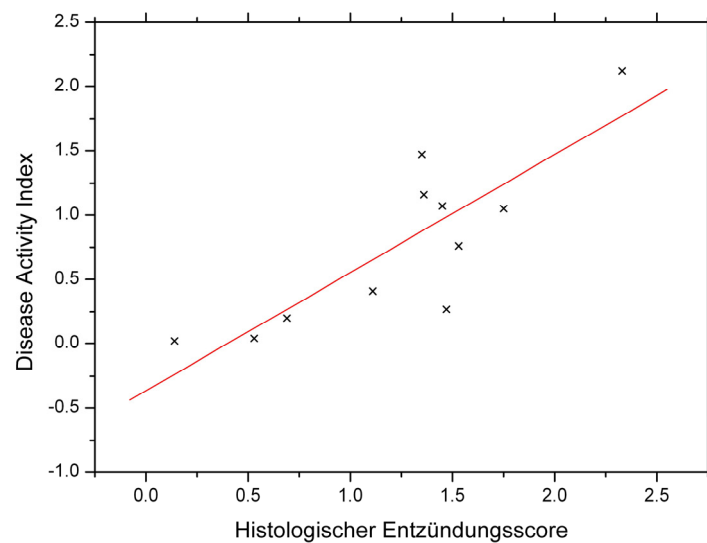


Abbildung 13: Korrelation des DAI mit dem histologischen Entzündungsscore

Abgebildet ist eine annähernd lineare Beziehung zwischen dem histologischen Entzündungsscore und dem DAI, unabhängig von der DSS-Konzentration und Anzahl der Zyklen. Es besteht eine eindeutige Korrelation ($r^2 = 0.700$).

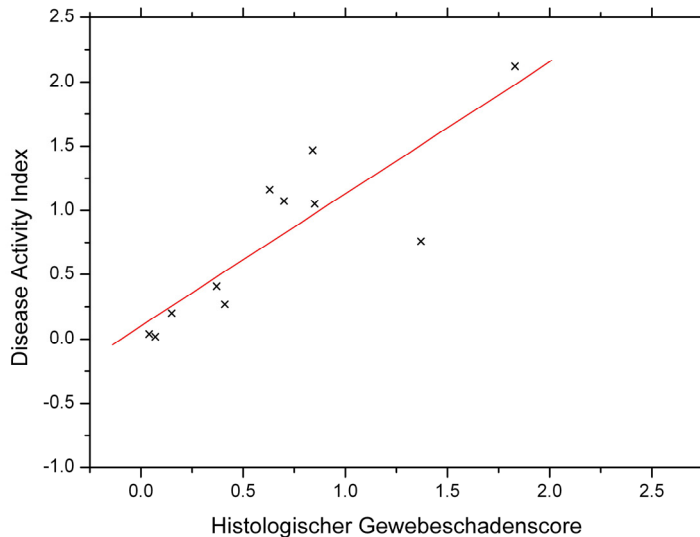


Abbildung 14: Korrelation des DAI mit dem histologischen Gewebesadenscore

Abgebildet ist eine annähernd lineare Beziehung zwischen dem histologischen Entzündungsscore und dem DAI, unabhängig von der DSS-Konzentration und Anzahl der Zyklen. Es besteht eine eindeutige Korrelation ($r^2 = 0.857$).

3.5 Histologie

Die histologischen Veränderungen des Colons wurden durch einen Entzündungs-, sowie durch einen Gewebesadenscore abgebildet. Hierbei zeigte sich, daß beide Merkmale, unabhängig von der Höhe der DSS-Konzentration oder der Verabreichungsdauer, im Colon descendens und Colon sigmoideum deutlicher ausgeprägt waren, als im Colon ascendens und Colon transversum. Die Unterschiede zwischen dem linken Colon und den übrigen Darmabschnitten waren statistisch signifikant ($p < 0.001$).

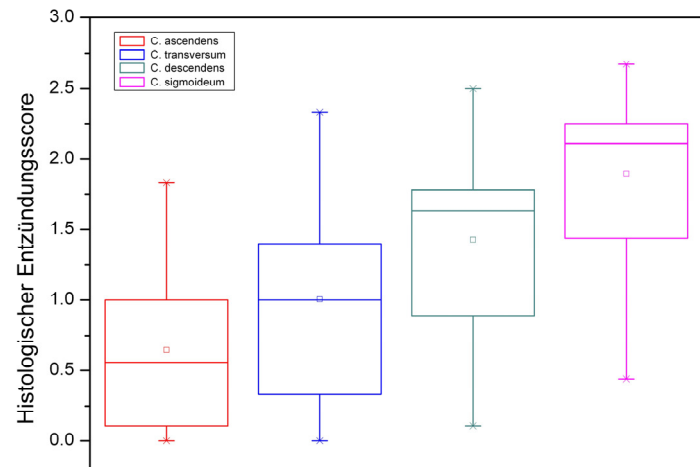


Abbildung 15: Histologischer Entzündungsscore in Abhängigkeit der Lokalisation

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des histologischen Entzündungsscores innerhalb der einzelnen Colonabschnitte, unabhängig von der DSS-Konzentration und Anzahl der Zyklen. Deutlich ist eine überwiegend linksseitige Manifestation im Bereich des Colon acsendens und Colon sigmoideum zu erkennen.

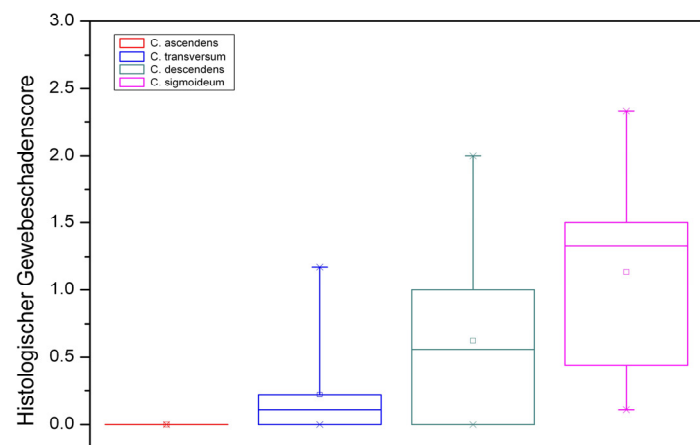


Abbildung 16: Histologischer Gewebeschadensscore in Abhängigkeit der Lokalisation

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des histologischen Gewebeschadenscores innerhalb der einzelnen Colonabschnitte, unabhängig von der DSS-Konzentration und Anzahl der Zyklen. Es ist eine nahezu exklusive linksseitige Manifestation im Bereich des Colon acsendens und Colon sigmoideum zu erkennen.

Sowohl der Entzündungsscore, als auch der Gewebeschadensscore waren von der verabreichten DSS-Konzentration abhängig, wobei insbesondere zwischen den Gruppen DSS 1% und H₂O, sowie zwischen DSS 3% und DSS 5% häufig keine statistisch signifikanten Unterschiede bestanden. Im Colon ascendens trat zu keiner Zeit ein Gewebeschaden auf, während im Colon transversum ein geringer Gewebeschaden zu beobachten war, der sich jedoch unbeeinflusst von der DSS-Konzentration zeigte.

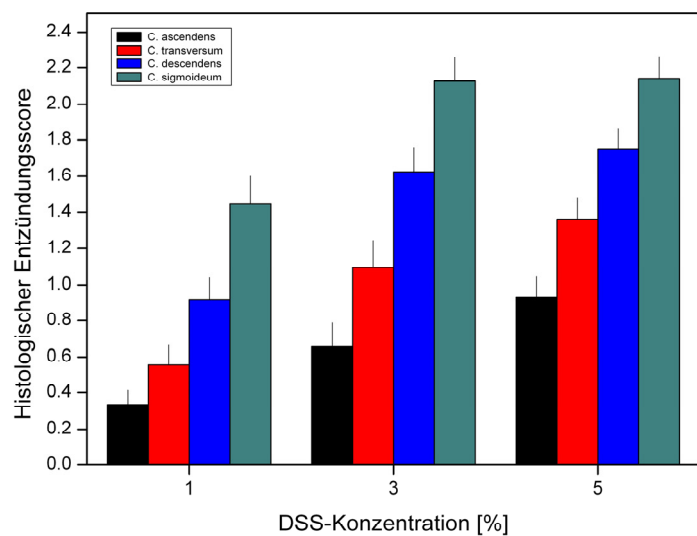


Abbildung 17: Histologischer Entzündungsscore in Abhängigkeit der Lokalisation und DSS-Konzentration

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des histologischen Entzündungsscores innerhalb der einzelnen Colonabschnitte, unabhängig von der Anzahl der Zyklen. Auch unter Berücksichtigung der verabreichten DSS-Konzentration bleibt die überwiegend linksseitige Manifestation im Bereich des Colon ascendens und Colon sigmoideum erhalten, wobei die Höhe des Entzündungsscores mit ansteigender DSS-Konzentration zunimmt.

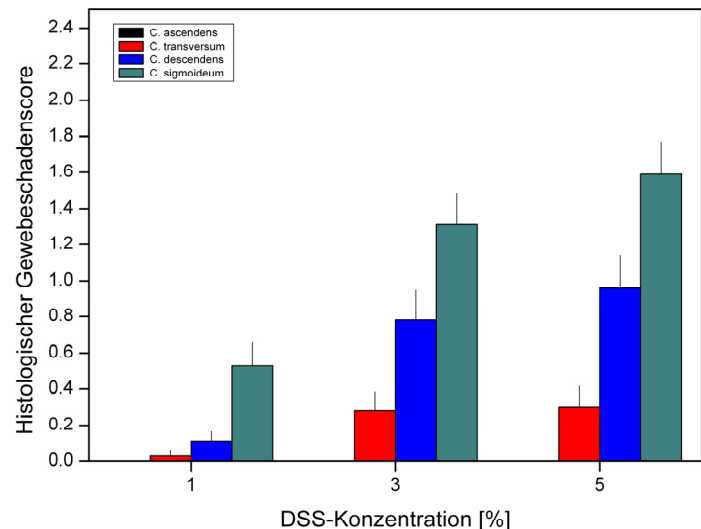


Abbildung 18: Histologischer Gewebeschadenscore in Abhängigkeit der Lokalisation und DSS-Konzentration

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des histologischen Gewebeschadenscores innerhalb der einzelnen Colonabschnitte, unabhängig von der Anzahl der Zyklen. Auch unter Berücksichtigung der verabreichten DSS-Konzentration bleibt die nahezu exklusive linksseitige Manifestation im Bereich des Colon acsendens und Colon sigmoideum erhalten, wobei die Höhe des Gewebeschadenscores mit ansteigender DSS-Konzentration zunimmt.

Mit zunehmender Verabreichungsdauer stiegen prinzipiell auch der Entzündungs-, sowie der Gewebeschadenscore an. Bei der Verabreichung von DSS 1% ergaben sich bei Betrachtung des Gewebeschadenscores keine zeitabhängigen, statistisch signifikanten Unterschiede. Gleiches traf für die DSS 5% Gruppe zu, wobei innerhalb dieser Gruppe auch der Entzündungsscore, abgesehen von einer Ausnahme, die als zufällig zu betrachten ist, nicht von der Verabreichungsdauer beeinflusst wurde (siehe Anhang).

3.6 Überleben

Insgesamt verstarben 20 Tiere (17.5%, $n = 114$), die ausschließlich der DSS 3% und DSS 5% Gruppe angehörten, vor Erreichen des Versuchsendes. Verluste traten bei höheren DSS-Konzentrationen früher auf, so verstarben die ersten Tiere der DSS 5% Gruppe bereits ab Versuchstag 24, Tiere der DSS 3% Gruppen hingegen frühestens ab Versuchstag 45. Die mediane Überlebenswahrscheinlichkeit sank mit zunehmender DSS-Konzentration von 119 Tagen (DSS 1%) auf 106 Tage (DSS 3%), beziehungsweise 59 Tage (DSS 5%). Der Vergleich dieser Gruppen untereinander erreichte statistische Signifikanz ($p < 0.001$). Desweiteren zeigte sich, daß mit ansteigender DSS-Konzentration auch die Anzahl verstorbener Tiere innerhalb der entsprechenden Gruppe zunahm. Während alle Tiere der H₂O ($n = 6$) und der DSS 1% Gruppe ($n = 36$) überlebten,

verstarben 4 Tiere der DSS 3% Gruppe (11.1%, n = 36) und 16 Tiere der DSS 5% Gruppe (44.4%, n = 36) vorzeitig.

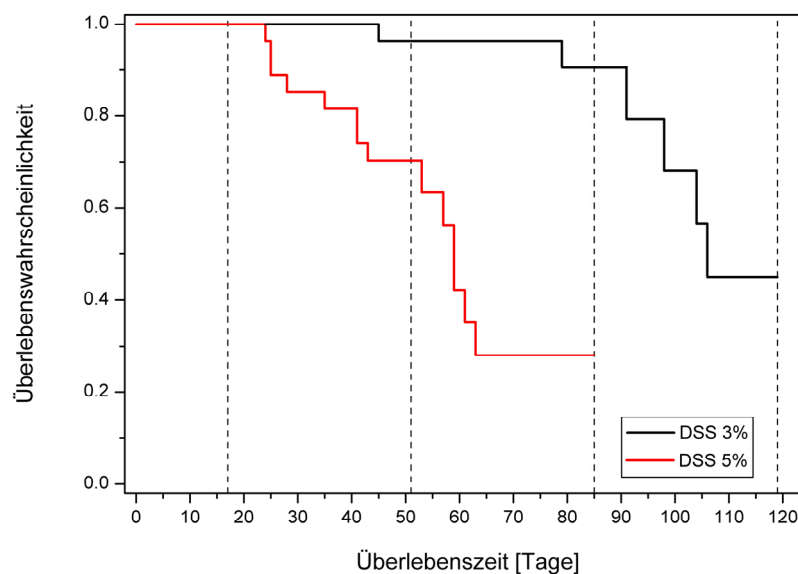


Abbildung 19: Überleben in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Abgebildet ist eine Kaplan-Meier-Analyse der Überlebenswahrscheinlichkeit zu einem gegebenen Zeitpunkt für Versuchstiere, die DSS 3% oder 5% erhielten. Die gestrichelten Linien Markieren das Ende der Beobachtungszeiträume (nach 1, 3, 5 und 7 Zyklen). Insgesamt betrachtet zeigt sich eine deutlich verringerte Überlebenswahrscheinlichkeit der DSS 5% Gruppe gegenüber der DSS 3% Gruppe nach bereits einem Zyklus. Die H₂O und DSS 1% Gruppe sind nicht abgebildet, da keine Tiere vor dem Erreichen der vorgegebenen Beobachtungsdauer verstarben.

3.7 Körpergewicht

Die Mittelwerte des Körpergewichtes fielen, unabhängig von der Verabreichungsdauer, mit zunehmender DSS-Konzentration niedriger aus. Zwischen den Gruppen H₂O und DSS 1% bestand kein Unterschied ($p < 0.146$), während alle übrigen Gruppenvergleiche statistisch signifikant waren ($p < 0.001$).

DSS-Konzentration [%]	Körpergewicht [g]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	23.431	0.354	22.730	24.132	6
1	22.558	0.145	22.271	22.845	36
3	21.375	0.147	21.083	21.666	36
5	20.374	0.145	20.085	20.662	36

Tabelle 3: Körpergewicht in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

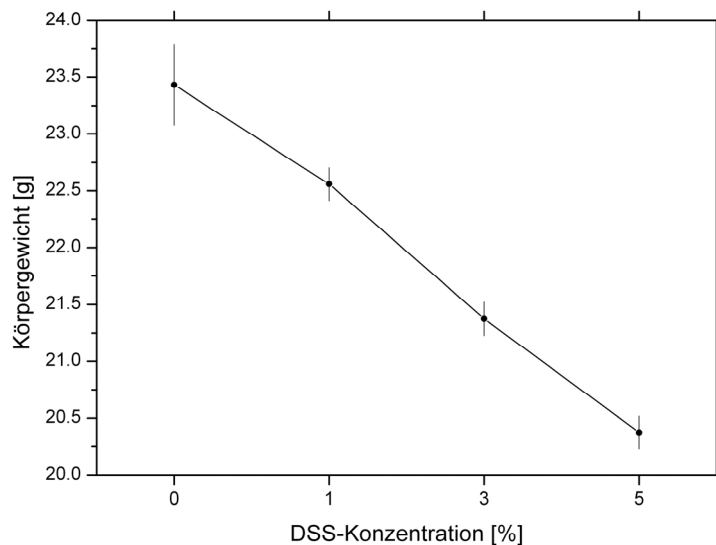
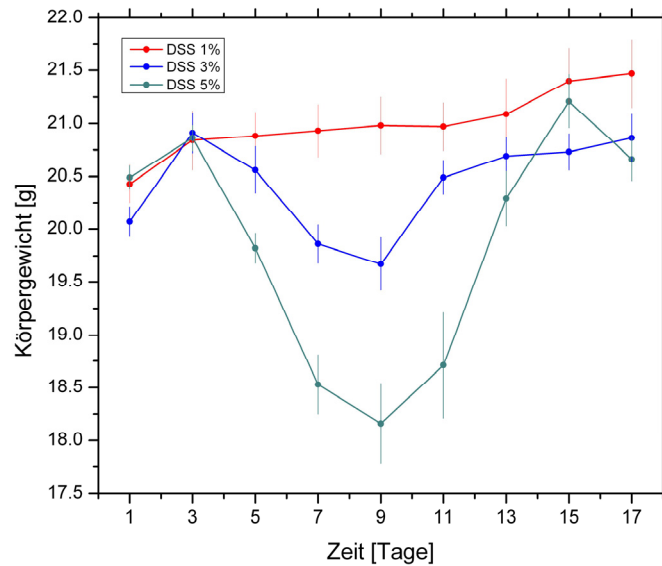


Abbildung 20: Körpergewicht in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Dargestellt sind die Mittelwerte des Körpergewichtes (\pm Standardfehler) in Abhängigkeit der jeweiligen DSS-Konzentration. Es zeigt sich eine deutliche Reduktion des Körpergewichtes bei ansteigender DSS-Konzentration.

Unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer zeigte sich, daß das Körpergewicht mit Ausnahme der H₂O Gruppe zyklische Schwankungen vollzog. Die DSS 1% Gruppe zeigte dieses Verhalten im Gegensatz zu den anderen Gruppen erst nach einer Verabreichungsdauer von mehr als drei Zyklen. Beginnend mit der Verabreichung von DSS am ersten Zyklustag, sank das Körpergewicht und erreichte gegen Ende der DSS Gabe (Tag 7 ± 2 Tage) ein vorübergehendes Minimum. Ab dem Zeitpunkt der Umstellung auf normales Trinkwasser am achten Zyklustag, stieg das Körpergewicht schließlich an und erreichte am Ende des Zyklus (Tag 17 ± 2 Tage) wieder annähernd den Ausgangswert zu Beginn des jeweiligen Zyklus. Die Amplitude der Schwankungen, gleichbedeutend dem temporären Gewichtsverlust, fiel um so höher aus, je höher die verabreichte DSS-Konzentration war.

**Abbildung 21: Zyklische Schwankungen des Körpergewichtes**

Exemplarisch abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des Körpergewichtes der DSS-Gruppen während des ersten Versuchszyklus. Deutlich sind in der DSS 3% und 5% Gruppe die zyklischen Gewichtsschwankungen zu erkennen. Das Ausmaß des temporären Gewichtsverlustes wird entscheidend durch die DSS-Konzentration beeinflusst.

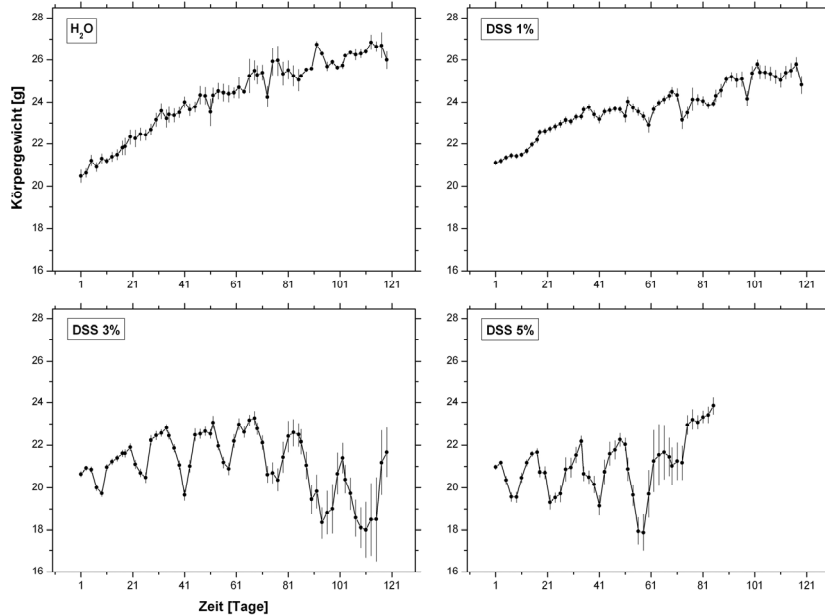


Abbildung 22: Zyklische Schwankungen des Körpergewichtes in Abhängigkeit der DSS-Konzentration und der Zeit

Abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des Körpergewichtes aller Gruppen. Es zeigt sich, daß zyklische Gewichtsschwankungen nur in den DSS-Gruppen auftreten. Darüber hinaus treten die zyklischen Schwankungen in der DSS 1% Gruppe angedeutet erst ab dem dritten Zyklus (Tag 35) auf.

Der Vergleich der Mittelwerte des Körpergewichtes von ersten Versuchstag mit den Mittelwerten des Körpergewichtes bei Tötung beziehungsweise vorzeitigem Versterben der Tiere zeigte, daß mit Ausnahme der DSS 5% Gruppe ein Gewichtszuwachs bestand. Je höher die verabreichte DSS-Konzentration war, desto geringer stieg jedoch das Gewicht über den gesamten Versuchszeitraum von 119 Tagen betrachtet an. Der Mittelwert des Gewichtszuwachses aller Gruppen betrug $7.55 \pm 1.28 \%$, nur innerhalb der DSS 5% Gruppe trat ein tatsächlicher Gewichtsverlust von $1.84 \pm 1.73 \%$ gegenüber dem Ausgangsgewicht auf. Mit Ausnahme der Vergleiche der Gruppen H_2O und DSS 1% ($p < 0.781$), sowie DSS 3% und DSS 5% ($p < 0.529$), erreichten sämtliche Gruppenunterschiede statistische Signifikanz. Die zunehmende Anzahl absolvierter Zyklen wirkte sich, bis auf eine Ausnahme, in Form eines zunehmenden, oder zumindest gleichbleibenden prozentualen Gewichtszuwachses aus. Ein statistisch signifikanter Gewichtsverlust trat nur innerhalb der DSS 5% Gruppe zwischen dem dritten und fünften Zyklus auf ($7.37 \pm 2.21 \%$, $p = 0.44$).

DSS-Konzentration [%]	Gewichtszuwachs [%]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	18.267	4.193	9.956	26.578	6
1	11.356	1.716	7.954	14.757	36
3	2.425	1.742	-1.028	5.878	36
5	-1.844	1.725	-5.263	1.575	36

Tabelle 4: Prozentualer Gewichtszuwachs in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

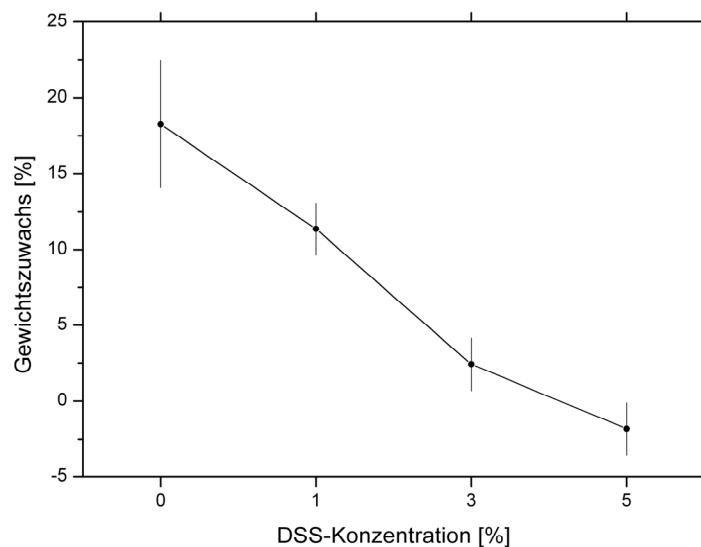


Abbildung 23: Prozentualer Zuwachs des Körpergewichts in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) des prozentualen Gewichtszuwachses aller Gruppen. Deutlich ist zu erkennen, daß sich die Höhe der DSS-Konzentration negativ auf den Gewichtszuwachs auswirkt. Erst ab einer DSS-Konzentration von 5% ist schließlich ein tatsächlicher Gewichtsverlust zu beobachten.

3.8 Trinkwasserkonsum

Der Mittelwert des Trinkwasserkonsumes aller Gruppen für zwei Versuchstage betrug 8.535 ± 0.096 ml. Die Mittelwerte aller DSS-Gruppen waren statistisch signifikant niedriger, als die der H₂O-Gruppe. Der Vergleich der DSS-Gruppen untereinander ergab, daß die Tiere der DSS 5% statistisch signifikant weniger tranken, als die Tiere der DSS 1% und DSS 3% Gruppe.

DSS-Konzentration [%]	Trinkmenge [ml]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	9.528	0.315	8.904	10.152	6
1	8.310	0.129	8.055	8.565	36
3	8.627	0.129	8.372	8.882	36
5	7.673	0.129	7.418	7.928	36

Tabelle 5: Trinkwasserkonsum in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Ähnlich den Werten des Körpergewichtes vollzogen auch die Mittelwerte des Trinkwasserverbrauches zyklische Schwankungen. Zu Beginn der DSS-Gabe, am ersten Zyklustag, sank die konsumierte Trinkwassermenge und verweilte auf niedrigerem Niveau, als bei der Verabreichung von normalem Trinkwasser. Nach der Umstellung von DSS auf Trinkwasser stieg die Trinkmenge zunächst überdurchschnittlich an (Tag 9 ± 3 Tage) und näherte sich in den verbleibenden Zyklustagen wieder dem Niveau des Gruppenmittelwertes.

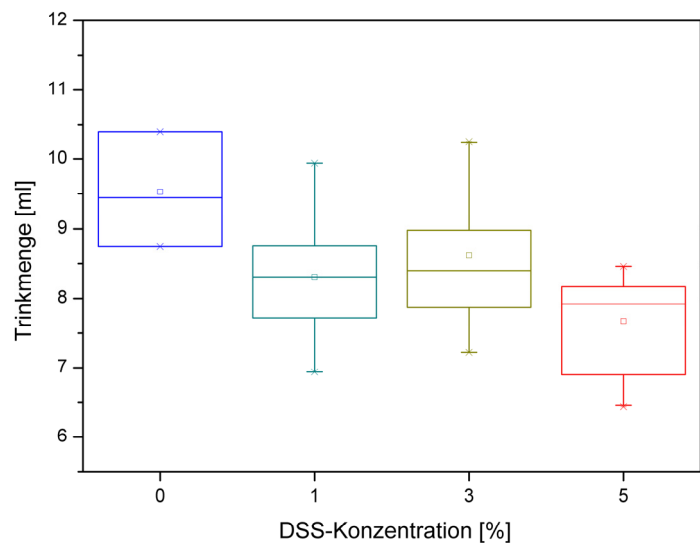


Abbildung 24: Trinkwasserkonsum in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der innerhalb von zwei Tagen konsumierten Trinkwassermenge aller Gruppen. Es ist zu erkennen, daß Tiere der DSS-Gruppen weniger tranken als Tiere der H₂O Gruppe.

Variationen der Verabreichungsdauer wirkten sich in der DSS 1% und DSS 3% Gruppe nur dahingehend aus, daß die Trinkmenge in den Zyklen 3, 5 und 7 grundsätzlich höher war,

als im ersten Zyklus. Die Trinkmenge der H₂O- und der DSS 5% Gruppe blieb hingegen über die gesamte Versuchsdauer konstant.

3.9 Urinproduktion

Die durchschnittliche, innerhalb von zwei Tagen produzierte Urinmenge, betrug für alle Gruppen 1.651 ± 0.052 ml. Auch dieser Parameter wurde durch die DSS-Konzentration insofern beeinflusst, als die produzierte Urinmenge mit zunehmender DSS-Konzentration abnahm. Zwischen der H₂O und der DSS 1% Gruppe, sowie zwischen der DSS 3% und der DSS 5% Gruppe bestanden keine Unterschiede bezüglich der Urinproduktion ($p = 1.000$).

Alle übrigen Gruppenvergleiche erreichten statistische Signifikanz ($p < 0.001$).

DSS-Konzentration [%]	Urinmenge [ml]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	2.245	0.173	1.902	2.589	6
1	2.217	0.066	2.086	2.348	36
3	1.132	0.069	0.995	1.269	34
5	1.010	0.083	0.846	1.175	26

Tabelle 6: Urinmenge in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

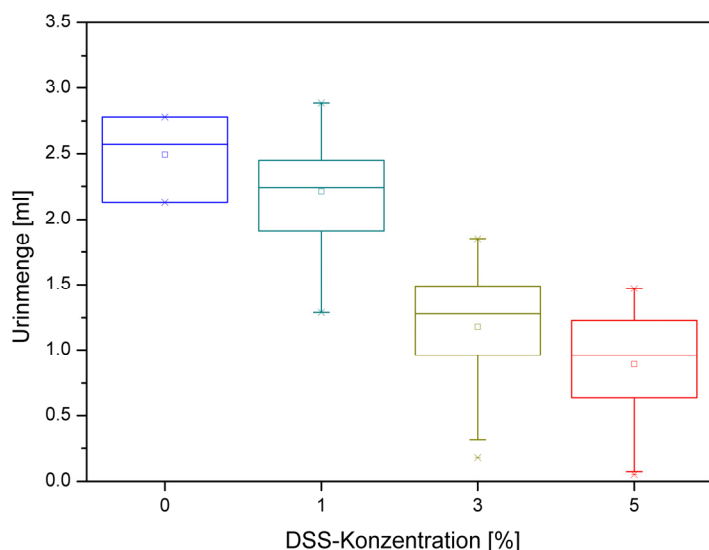


Abbildung 25: Urinmenge in Abhängigkeit der DSS-Konzentration

Dargestellt sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der innerhalb von zwei Tagen ausgeschiedenen Urinmenge aller Gruppen. Deutlich zeigt sich eine Abnahme der Urinproduktion bei steigender DSS-Konzentration.

Im zeitlichen Verlauf waren angedeutete, biphasische zyklische Schwankungen der Urinausscheidung zu erkennen. Zeitpunkte der geringsten Ausscheidung waren jeweils der erste und siebte Zyklustag (± 2 Tage), entsprechend dem Beginn und dem Ende der DSS-Gabe. Vereinzelt traten statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der Urinmenge in DSS-Gruppen mit gleicher Konzentration, aber unterschiedlich langer Verabreichungsdauer auf, die jedoch keine eindeutige Interpretation erlaubten (siehe Anhangtabelle 46).

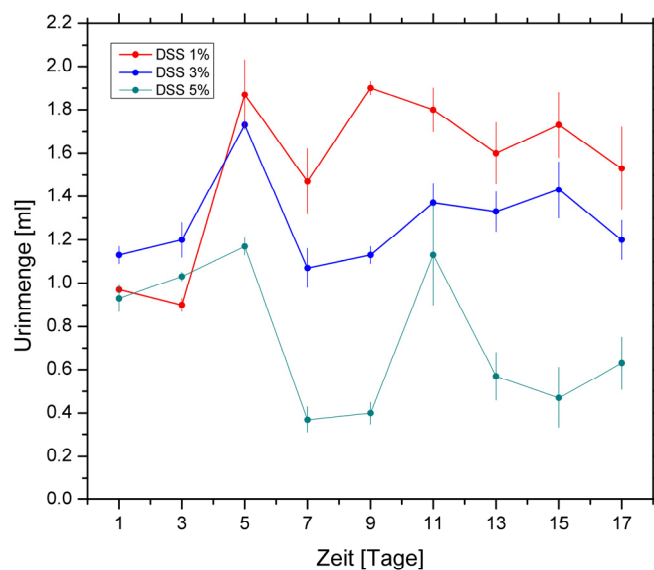


Abbildung 26: Zyklische Schwankungen der Urinausscheidung

Exemplarisch abgebildet sind die Mittelwerte (\pm Standardfehler) der innerhalb von zwei Tagen ausgeschiedenen Urinmenge aller DSS-Gruppen während des ersten Versuchszyklus. In allen Gruppen sind zyklische Schwankungen mit einem Minimum um den siebten Tag zu erkennen. Die Höhe der Amplitude wird durch die DSS-Konzentration beeinflusst.

4 Diskussion

4.1 Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen

Die Colitis ulcerosa (CU) und der Morbus Crohn (MC) stellen die beiden wichtigsten Vertreter der Gruppe der chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED) dar. Es handelt sich in beiden Fällen um immunologisch vermittelte, chronisch wiederkehrende Entzündungen des Darmes, deren Pathogenese bis zum heutigen Tage nicht vollständig geklärt ist. Aufgrund von Daten, die überwiegend aus Tiermodellen stammen, vermutet man, daß es sich um eine Gruppe multifaktoriell bedingter Erkrankungen handelt⁴⁸. Ein möglicher Faktor stellt hierbei die genetische Prädisposition dar. Die Konkordanzrate bei eineiigen Zwillingen beträgt für den MC ca. 50 % und für die CU ca. 10%⁴⁸. Bei der Suche nach krankheitsbegünstigenden Genen konnten für den MC vier und für die CU ein Gen identifiziert werden. Das am häufigsten untersuchte Gen für MC ist das ‚caspase recruitment domain family member 15‘ Gen (CARD15, vormals NOD2). Es wurden drei Mutationen des CARD15 Gens gefunden, von den mindestens eine bei ca. 30 % aller MC Patienten vorhanden ist⁴⁸. Die Funktion von CARD15, das in antigenpräsentierenden Zellen vorkommt, besteht in der Erkennung bakterieller Zellwandpolymere und Aktivierung von NF- κ B, welches wiederum zahlreiche proinflammatorische Gene aktiviert^{48, 51}. Darüberhinaus wurde CARD15 in Paneth'schen Körnerzellen der Darmschleimhaut nachgewiesen, die für die Sekretion antimikrobiell wirksamer α -Defensine verantwortlich sind³⁵. Sowohl im Tiermodell, als auch beim Menschen, konnte nachgewiesen werden, daß eine CARD15-Mutation mit einer verminderten α -Defensin-Sekretion verbunden ist⁴⁸. Die Folge dieses Defektes ist eine eingeschränkte Fähigkeit des Darmepithels, Bakterien zu eliminieren. Ungeklärt ist bisher, weshalb bei Trägern einer CARD15-Mutation trotz Gendefekt erhöhte NF- κ B Spiegel zu messen sind. Eine mögliche Erklärung ist, daß NF- κ B durch die übermäßige bakterielle Besiedlung über alternative Wege aktiviert wird⁵¹. Eine ähnliche Funktion in Bezug auf die Eliminierung von Bakterien besitzt möglicherweise das ‚multidrug resistance gene‘ (MDR1). Dieses Gen ist ebenfalls in Darmepithelzellen vorhanden und kodiert P-Glycoprotein 170, ein Transporter, der in der Lage ist, Pharmaka und vermutlich auch bakterielle Komponenten aus dem Zellinneren auszuschleusen. Eine Mutation dieses Gens wurde mit therapierefraktärer CU in Verbindung gebracht².

Neben einer genetischen Prädisposition werden auch Umweltfaktoren für die Entstehung von CED in Betracht gezogen. Der Anlaß ist eine Zunahme von CED, insbesondere des MC überwiegend in den industrialisierten Ländern der westlichen Welt. Als mögliche Einflußgrößen gelten das Rauchen, die Ernährung, sowie der Konsum nichtsteroidaler Antiphlogistika und Antibiotika. Hinsichtlich der Ernährung werden vor allem die negativen Auswirkungen übermäßiger Eisen- und Aluminiumzufuhr diskutiert. Beide Elemente sind in unserer Nahrung im Überfluß vorhanden und erhöhen nachweislich die Virulenz von Bakterien, die in der Pathogenese der CED möglicherweise von Bedeutung sind⁴⁸. Nichtsteroidale Antiphlogistika verursachen durch unspezifische Entzündungen eine

Schädigung der Epithelbarriere und ermöglichen somit den direkten Kontakt bakterieller Antigene mit Zellen des Immunsystems innerhalb der Lamina propria. Ein derartiger Mechanismus wird neben Anderen als möglicher initialer Auslöser für CED in Erwägung gezogen^{45, 47, 48}. Die Wirkung des Rauchens ist noch nicht ausreichend untersucht. Es wurden jedoch vollkommen gegensätzliche Wirkungen des Rauchens bei CU und MC Patienten beschrieben. Während Rauchen bei CU scheinbar protektiv wirkt, verschlechtert es das Krankheitsbild bei MC und vermag Rezidive der Erkrankung auszulösen. Welche Bestandteile des Zigarettenrauchs hierbei von Bedeutung sind, ist weitgehend ungeklärt^{47, 48}.

Ein dritter Faktor, neben der genetischen Prädisposition und den Umwelteinflüssen sind Bakterien, insbesondere jene, die in der normalen Darmflora physiologisch vorhanden sind. In mehreren Tiermodellen zeigte sich, daß sterile Mäuse, die keine Darmflora besitzen, bis auf wenige Ausnahmen, zu denen möglicherweise auch das DSS-Modell zählt, keine Colitis entwickeln. Nach Besiedlung des Darmes dieser Tiere mit Mikroorganismen der gewöhnlichen Darmflora war die Erkrankung jedoch induzierbar. Auch die Tatsache, daß manche CED Patienten von einer Therapie mit Antibiotika wie beispielsweise Metronidazol profitieren, spricht für eine bakterielle Beteiligung. Es besteht Grund zur Annahme, daß Bakterien der Darmflora bei einem genetisch prädisponierten Individuum eine Entzündung des Darmes bewirken können^{9, 18, 26, 52}. Die Voraussetzung hierfür wäre, wie bereits im Zusammenhang mit den NSAR erwähnt, eine Störung der Epithelbarriere der Darmschleimhaut, die den ansonsten weitgehend unterbundenen direkten Kontakt von Bakterien der Darmflora mit Zellen des Immunsystems in der Darmwand ermöglicht. Welcker et al. zeigten, daß sowohl CU als auch MC Patienten eine erhöhte Permeabilität des Darmepithels aufweisen⁵⁴. Durch das Eindringen von Bakterien in die Lamina propria könnte eine unspezifische Aktivierung von CD4+ T-Lymphozyten erfolgen, die letztendlich in einer Entzündung mündet. Eine Verschiebung des Gleichgewichtes der Darmflora zwischen nützlichen probiotischen und pathogenen Bakterien könnte an dieser Stelle ebenfalls von Bedeutung sein. Obgleich MC Patienten häufig eine erhöhte bakterielle Besiedlung des Darmes zeigen, konnten bisher keine einzelnen Erreger identifiziert werden, die dieser Erkrankung zweifelsfrei zuzuordnen sind, da das Bild der Besiedlung von Patient zu Patient äußerst variabel ist. Es existieren Theorien, die sich auf einen bestimmten Erreger stützen, diese lassen jedoch oft eine Vielzahl von Fragen offen. Stellvertretend für atypische Mykobakterien sei das Mykobakterium paratuberculosis (MAP) erwähnt. Dieses wird durch kontaminierte Milch- und Rindfleischprodukte übertragen und kommt in Nordamerika, Australien und Europa vor. Aufgrund der Ähnlichkeit des Bildes des MC mit dem der intestinalen Tuberkulose wurde ein Zusammenhang mit einer möglichen MAP Infektion vorgeschlagen. Tatsächlich fand sich dieser Erreger in Biopsien der Darmschleimhaut von MC und CU Patienten, wobei jedoch die Auffindungsrate in unterschiedlichen Studien zwischen 0 und 100 % variierte^{48, 49}. Desweiteren ist unklar, weshalb CED Patienten mit MAP Besiedlung dennoch von einer immunsuppressiven Therapie profitieren, obwohl unter diesen Bedingungen eigentlich eine Exazerbation der Erkrankung zu erwarten wäre. Möglicherweise ist eine MAP Infektion nicht der Auslöser der Erkrankung, sondern lediglich die Folge einer bereits bestehenden Entzündung, die eine Besiedlung mit MAP begünstigt.

Der vierte Faktor, der für die Pathogenese der CED von Bedeutung ist, ist ein Defekt des Immunsystems der Darmschleimhaut selbst. Hierbei kann zwischen einem Defekt der Effektorzellen und einem Defekt regulatorischer Zellen unterschieden werden. Bei Vorliegen eines Defektes innerhalb der Effektorzellen verursachen aggressive CD4+ T-Zellpopulationen bei Kontakt mit Bakterien der normalen Mikroflora eine Entzündung des Darmes. Die Ursache scheint in einem Toleranzverlust des Immunsystems gegenüber Antigenen der eigenen Darmflora zu liegen. Unter dem Einfluß von Interleukin 6 und weiteren Faktoren sind diese T-Zellen darüberhinaus in der Lage sich der Apoptose zu entziehen, wodurch die Entzündung aufrechterhalten werden kann. Die Aufgabe regulatorischer Zellen hingegen besteht darin, eine Immunreaktion durch Sekretion antiinflammatorischer Zytokine, insbesondere IL-10 und TGF- β , zu unterbinden. Drei unterschiedliche Populationen dieser regulatorischen Zellen konnten bisher identifiziert werden. T_{reg} und T_R1 Zellen sind in der Lage eine Entzündung der Darmes zu verhindern, während CD4+ CD25+ T-Zellen eine bereits vorhandene experimentelle Colitis im Tiermodell zur Abheilung bringen können. Ein Defekt in einer dieser regulatorischen Zellpopulationen könnte deshalb aufgrund der fehlenden oder inadäquaten Gegensteuerung den Ausbruch der Erkrankung bewirken^{9, 18, 48, 51, 52}.

Vermutlich ist jedoch keiner dieser Faktoren isoliert, sondern vielmehr eine Kombination mehrerer Defekte und Umwelteinflüsse ausschlaggebend, aus der letztendlich eine Th1 oder eine atypische Th2 vermittelte, nichtinfektiöse Entzündung des Darmes resultiert. Da das Zytokinprofil von MC Patienten erhöhte IL-12 und IFN- γ Spiegel aufweist, scheint gesichert, daß es sich hierbei um eine klassische Th1 vermittelte Entzündung handelt^{48, 52}. Auch die im Tiermodell im Rahmen einer Th1 Immunantwort auftretenden histologischen Veränderungen entsprechen, trotz gelegentlich zu beobachtenden oberflächlichen Ulzerationen, überwiegend dem histologischen Bild des MC mit dem charakteristischen transmuralen Befall und Granulombildung⁵².

Neue Studienergebnisse lassen vermuten, daß nicht nur die Th1, sondern möglicherweise auch die erst kürzlich entdeckte Th17 Zelllinie maßgeblich am Entzündungsgeschehen beteiligt ist^{19, 33, 42}. Elson et al. gehen davon aus, daß Th1 Zellen lediglich in der Induktionsphase der Erkrankung von Bedeutung sind, während Th17 Zellen unter dem Einfluß von IL-17 und weiteren Zytokinen das Fortschreiten der Erkrankung bewirken.

Im Gegensatz zum MC würde man die CU zunächst aufgrund ihres histologischen Bildes, gekennzeichnet durch oberflächliche Schleimhautulzerationen und ausschließlichen Befall des Colons, als Th2 vermittelte Entzündung klassifizieren⁵². Ein Anstieg von IL-4 und IL-5, den beiden dominierenden Zytokinen einer Th2 Reaktion, ist zwar im Tiermodell zu beobachten, bei CU Patienten treten erhöhte IL-4 Spiegel jedoch typischerweise nicht auf⁵². Eine Erhöhung von IL-13 ist hingegen sowohl im Tiermodell der CU als auch beim Menschen zu beobachten. Fuss et al. gehen aufgrund dieser Tatsache davon aus, daß es sich bei der CU um eine durch ‚natural killer‘ T-Zellen (NK T-Zellen) vermittelte atypische Th2 Antwort handelt²¹. Hierbei werden NK T-Zellen durch antigenpräsentierende Zellen die einen atypischen MHC Rezeptor (CD1d) tragen, der Lipid- an Stelle von Proteinantigenen präsentiert, aktiviert. In Folge dessen sezernieren diese IL-13, welches den Verlust von Epithelzellen und die Entstehung von Ulzerationen verursacht. Ein weiterer

Hinweis auf die wichtige Bedeutung von IL-13 ist die Tatsache, daß dessen Eliminierung durch einen monoklonalen Antikörper im Modell der Oxazolol induzierten Colitis den Ausbruch der Erkrankung verhindern konnte²².

4.2 Tiermodelle für chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Mittlerweile existieren über 60 Modelle zur Abbildung chronisch entzündlicher Darmerkrankungen, wobei ein Großteil dieser Modelle im vergangenen Jahrzehnt entstanden ist. Da diese Modelle sowohl zahlreiche Gemeinsamkeiten, als auch Unterschiede aufweisen, wurden verschiedene Klassifizierungen vorgenommen.

Eine Möglichkeit der Zuordnung eines Modells zu einer bestimmten Gruppe besteht darin, nach der vorherrschenden Immunreaktion zu differenzieren. Hieraus ergibt sich eine Zweiteilung, einerseits in Modelle die auf einer Typ 1 und in Modelle, die auf einer Typ 2 T-Helferzell vermittelten Immunreaktion basieren. Die Nachteile dieser Einteilung bestehen jedoch darin, daß nicht alle Modelle eindeutig einer dieser beiden Kategorien zugeordnet werden können. Wie bereits beschrieben fanden sich bei der DSS induzierten Colitis sowohl Th1 als auch Th2 typische Zytokine¹⁴. Eine weitere Herausforderung stellt die TNBS induzierte Colitis dar. Während die Gabe von TNBS bei SJL/J Mäusen eine Th1 Antwort provoziert, reagieren BALB/c Mäuse auf das gleiche Agens mit einer Th2 Antwort⁵². Eine weitere, relativ neue Einteilung wurde von Bouma et al. beschrieben. Sie schlugen ebenfalls eine Einteilung in zwei Gruppen vor, wobei unterschieden wurde, in welcher Lymphozytenpopulation der für die Erkrankung verantwortliche Defekt vermutlich zu finden ist. So weisen Modelle vom Typ I einen Defekt der Effektorzellen auf, während Typ II Modelle auf einem Defekt regulatorischer Immunzellen basieren⁹. Die Mehrzahl der Autoren bevorzugt jedoch eine Unterteilung der Modelle in fünf verschiedene Gruppen²⁵. Bei der ersten Gruppe handelt es sich um Gen-Knockout-Modelle. Dies sind Modelle mit Mäusen, die einen klar definierten genetischen Defekt besitzen, aufgrund dessen ihrem Immunsystem bestimmte Eigenschaften fehlen. Als Beispiel hierfür seien Interleukin-10 Knockout-Mäuse erwähnt. Der Gendefekt verursacht eine Entzündung des Dünn- und Dickdarms, da das Immunsystem der Tiere nicht in der Lage ist IL-10 zu produzieren, welches die entzündungsfördernde Aktivität von Th1-Zellen, NK-Zellen und Makrophagen unter Normalbedingungen hemmt^{4, 10, 20}. Eine weitere Gruppe stellen transgene Mäuse und Ratten dar. Ein verbreitetes Modell dieser Kategorie basiert auf Mäusen, die ein STAT-4 Transgen in sich tragen. STAT-4 ist ein bedeutender Transkriptionsfaktor in der Signalkaskade des IL-12, welches wiederum die treibende Kraft von Th1 vermittelten Immunreaktionen darstellt. Da STAT-4 in diesem Modell überexprimiert wird, steigt die Empfindlichkeit von CD4+ Lymphozyten gegenüber IL-12. Die Ausschüttung von IL-12 bewirkt eine Ausdifferenzierung von CD4+ Lymphozyten zu Th1-Zellen. Setzt man diese Tiere nun einem antigenen Stimulus aus, der bei unmodifizierten Mäusen keinerlei Wirkung zeigt, so entwickeln diese aufgrund der überschießenden Th1-Antwort eine Colitis^{18, 27, 52}. Die dritte Gruppe bilden die sich spontan entwickelnden chronisch entzündlichen Darmerkrankungen bei SAMP/Yit und C3H/HeJBir Mäusen. Letztere neigen dazu unter bestimmten Haltungsbedingungen spontan eine Colitis zu entwickeln. Die Ursache scheint in einem Defekt der angeborenen Immunität zu liegen, der eine überschießende T-Zellantwort auf bakterielle Antigene der Darmflora zur Folge hat^{6, 17, 24, 27}.

Das von uns verwendete Modell der DSS induzierten Colitis zählt zur relativ großen Gruppe der sogenannten chemisch induzierbaren chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.

Ein vergleichsweise neues Modell dieser Kategorie ist die Oxazolone induzierte Colitis. Hierbei wird Mäusen das Hapten Oxazolon rektal in Ethanol gelöst verabreicht. Der Auslösende Mechanismus ist noch weitgehend unbekannt, sicher ist jedoch, daß die daraus resultierende Colitis durch eine Th2 vermittelte Immunreaktion entsteht. Dies stellt eine Besonderheit dar, zumal die Mehrzahl der Modelle, sofern eine eindeutige Zuordnung möglich ist, auf dem Boden einer Th1-Antwort funktionieren. Es wurde darüberhinaus berichtet, daß die morphologischen Veränderungen in diesem Modell denen der menschlichen Form der Colitis ulcerosa sehr ähnlich seien und Rückschlüsse dahingehend gezogen, daß diese Nähe möglicherweise dadurch bedingt ist, daß auch die menschliche Form Th2 vermittelt sein könnte^{7, 32}. Bei der letzten Gruppe handelt es sich um Transfermodelle bei der beispielsweise SCID Mäusen, die weder B- noch T-Lymphozyten besitzen, bestimmte T-Zellpopulationen zugeführt werden, vornehmlich um die Funktion regulatorischer T-Zellen zu untersuchen. Inkubiert man die immundefizienten Mäuse mit CD45RB^{Hi}-T-Lymphozyten (undifferenzierte T-Lymphozyten) so entwickeln diese nach drei bis fünf Wochen eine schwere Colitis, werden jedoch gleichzeitig CD45RB^{Lo}-T-Lymphozyten (reife T-Lymphozyten) gegeben, so bleibt die Entstehung der Colitis aus. Der Vorteil dieses Modells besteht darin, daß mit zwei T-Lymphozytenpopulationen gearbeitet wird, von denen eine die Effektorzellen und die andere die regulatorischen Zellen repräsentiert. Dies ermöglicht eine präzise Analyse der Zellen innerhalb der jeweiligen Population hinsichtlich ihrer genauen Funktion^{1, 8, 18, 52}.

Keines der beschriebenen Modelle vereint alle Eigenschaften chronisch entzündlicher Darmerkrankungen in sich. Jedes Modell weist jedoch bestimmte Merkmale auf, die auch bei der menschlichen Form der Erkrankungen auftreten und leistet somit einen wertvollen Beitrag zur Klärung der Pathogenese oder der Entwicklung neuer Therapieoptionen.

4.3 Wirkungsweise von DSS

Der Mechanismus, über den Dextran Sulfat eine Colitis induziert, ist bislang nicht geklärt. Es wird vermutet, daß eine direkte Einwirkung von DSS auf die Epithelzellen der Colonschleimhaut der initial auslösende Mechanismus ist. Dies könnte zu einer erhöhten Permeabilität der Epithelbarriere führen und den direkten Kontakt luminaler Antigene mit Zellen des Immunsystems innerhalb der Lamina propria der Colonschleimhaut bewirken. Kitajima et al. zeigten, daß insbesondere in der Frühphase der DSS induzierten Colitis, noch vor dem Auftreten einer Entzündung, die Permeabilität des Colonepithels für Makromoleküle erhöht ist²⁹. Bisher wurde häufig von einer direkten Zytotoxizität des DSS auf die Epithelzellen der Colonschleimhaut ausgegangen, die zum Untergang der Zelle führen. Neuere Ergebnisse belegen jedoch, daß DSS offensichtlich auch in der Lage ist, den Zellzyklus von Caco-2 Zellen zu arretieren³. Diese Zelllinie wird häufig für in vitro Modelle zur Untersuchung der Darmepithelfunktion verwendet und stammt von Karzinomzellen des menschlichen Darmes ab. Araki et al. vermuten, daß eine Arretierung des Zellzyklus von Darmepithelzellen aufgrund des hohen Zellumsatzes im Epithel zu

Brüchen innerhalb der Zellverbände und somit zu einer erhöhten Permeabilität führt. Die gestörte Epithelbarriere hat mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Folge, daß Antigene der intestinalen Mikroflora diese ungehindert passieren können und Makrophagen in der Lamina propria der Darmschleimhaut aktivieren. Diese Makrophagen können eine Vielzahl unterschiedlicher proinflammatorischer Zytokine wie beispielsweise TNF- α sezernieren und dadurch eine Entzündung bewirken. Abgesehen von der direkten Aktivierung bestünde darüberhinaus die Möglichkeit, daß DSS die Funktion von Makrophagen beeinträchtigt. Durch die Aufnahme und Speicherung von DSS sind diese unter Umständen nicht mehr in der Lage Bakterien zu phagozytieren, die in die Schleimhaut eingedrungen sind^{31, 43, 44}. Ob bakterielle Antigene tatsächlich für die Entstehung der Erkrankung verantwortlich sind wird kontrovers diskutiert. Einerseits ist belegt, daß sich eine antibiotische Kombinationstherapie mit Metronidazol und Imipenem in einigen Versuchen durchaus günstig auf den Erkrankungsverlauf auswirkte, andererseits konnte eine Colitis mittels DSS auch bei sterilen Mäusen die keine Darmflora besitzen induziert werden²⁸. Ebenfalls unklar ist bislang, welche Rolle die Zellen der erworbenen Immunität im Modell der DSS induzierten Colitis einnehmen. Während es sich bei den Modellen der TNBS oder auch der Oxazolon induzierten Colitis um eindeutig Th1 beziehungsweise Th2 vermittelte Entzündungen handelt, läßt sich diese Klassifizierung beim DSS Modell nicht ohne Weiteres vornehmen, da hier ein Mischbild von Th1 und Th2 Zytokinen vorliegt¹⁴. Gegen eine exklusive Beteiligung von T-Lymphozyten spricht jedoch die Tatsache, daß SCID Mäuse, die theoretisch weder reife B- noch L-Lymphozyten besitzen, auf DSS Gabe eine Colitis entwickeln¹⁵. Aufgrund der unvollständigen Penetranz der SCID Mutation, die zudem nicht lymphozytenspezifisch ist, kann jedoch nicht vollständig ausgeschlossen werden, daß bestimmte SCID Stämme dennoch über eine geringe Anzahl von B- oder T-Lymphozyten verfügen, ein Phänomen, das als ‚SCID-Leakiness‘ bezeichnet wird^{41,13,23}.

Vieles deutet darauf hin, daß es sich bei der DSS induzierten Colitis um eine Entzündung handelt, die durch die direkte Aktivierung von Makrophagen entsteht. Auch die Ergebnisse von Marshall et al. unterstreichen die Bedeutung der Makrophagen in diesen Modell. So konnte nachgewiesen werden, daß die Inaktivierung von CSF-1 (cytokine colony stimulating factor 1), der für die Differenzierung, Proliferation, Aktivierung und Migration von Makrophagen verantwortlich ist, die Entstehung einer DSS induzierten Colitis verhindert³⁸. Falls T-Lymphozyten dennoch an der Auslösung der Erkrankung beteiligt seien sollten, was nicht gänzlich ausgeschlossen werden kann, so bestünde die Möglichkeit, daß eine Th1 oder Th2 vermittelte Immunreaktion von der Aktivierung der Makrophagen überlagert und somit verschleiert wird.

4.4 Molekulargewicht

DSS ist herstellerabhängig in unterschiedlichen Molekulargewichten zwischen 5 kD und 500 kD erhältlich. Dies sollte bei Verwendung der Substanz berücksichtigt werden, da das Molekulargewicht für die Induktion einer Colitis von entscheidender Bedeutung ist. Zur Durchführung der Versuche entschieden wir uns für DSS mit einem Molekulargewicht von 40.000 Dalton. Kitajima *et al.*³⁰ zeigten an einem Modell mit BALB/c Mäusen, daß durch die Gabe von DSS mit 40 kD MG die höchste Krankheitsaktivität zu erreichen war. Untersucht wurde die Auswirkung von 5% DSS mit 5 kD, 40 kD und 500 kD MG auf den

Ausprägungsgrad und die Lokalisation der Colitis, wobei sich herausstellte, daß Tiere mit DSS 5 kD MG nur geringe und Tiere mit DSS 500 kD MG keinerlei Zeichen der Erkrankung aufwiesen. Dies wurde erklärt durch den möglichen Zusammenhang zwischen der zunehmenden Molekülgröße bei steigendem Molekulargewicht und dem damit verbundenen Anstieg des Schwefelgehaltes im DSS Molekül. Die zunehmende Molekülgröße behindert die Passage von DSS durch das Epithel der Colonschleimhaut, was ein Ausbleiben der Entzündungsreaktion zur Folge hat. Kleinere DSS Moleküle hingegen, die das Epithel ungehindert passieren können, verfügen vermutlich über einen zu geringen Schwefelanteil um eine adäquate Entzündung auslösen zu können ⁵.

4.5 Empfindlichkeit verschiedener Mausstämme gegenüber DSS

Okayasu *et al.* ⁴⁴ konnten im Rahmen der Erstbeschreibung des DSS Modells nachweisen, daß sowohl der CBA/J, als auch der für pharmakologische Studien häufig verwendete BALB/c Stamm empfindlich auf DSS reagieren und eine Colitis entwickeln. Da es sich um ein robustes, sehr gut etabliertes Modell handelt findet es Verwendung in zahlreichen Studien mit verschiedensten, zum Teil genetisch modifizierten Mausstämmen. Aufgrund der enormen Vielfalt an unterschiedlichen Stämmen, untersuchten Mähler *et al.* erstmals, ob genetisch bedingte Variationen bezüglich der Empfindlichkeit gegenüber DSS bestehen ³⁷. Diese Ergebnisse zeigen, daß sich sowohl der Ausprägungsgrad, als auch die Lokalisation der Colitis zwischen den einzelnen Stämmen unterscheiden. Am empfindlichsten schien der C3H/HeJBir Stamm mit überwiegendem Befall des Caecums und des Colon ascendens, während sich NON/LtJ Mäuse als nahezu resistent gegenüber DSS erwiesen. Um mögliche Resistenzgene zu lokalisieren folgte eine weitere Studie, im Rahmen derer sensible C3H/HeJ mit teilweise resistenten C57BL/6J Mäusen gekreuzt wurden ³⁶. Auf diese Weise konnten zwei Gene, eines auf Chromosom 5 (Dssc1) und ein weiteres auf Chromosom 2 (Dssc2) identifiziert werden, die nachweislich die Empfindlichkeit gegenüber DSS beeinflussen. Aufgrund dieser Erkenntnisse sollte bei Anwendung des DSS Modells berücksichtigt werden welcher Mausstamm verwendet wird, da hiervon, vergleichbar mit dem Einfluß des DSS Molekulargewichtes, möglicherweise die Reproduzierbarkeit beziehungsweise der Vergleich von Studienergebnissen negativ beeinflusst wird.

4.6 DSS-Konzentration und kumulative DSS-Dosis

Ein wesentlicher Vorteil des von Okayasu *et al.* beschriebenen Modells gegenüber vergleichbaren Modellen, ist die Verabreichung des DSS in verschiedenen Konzentrationen über das Trinkwasser ⁴⁴.

Egger *et al.* untersuchten erstmals in einer Studie mit BALB/c Mäusen, ob die durch das DSS verursachten Läsionen des Colons von der verabreichten Konzentration der Lösung, oder der insgesamt konsumierten Dosis des DSS abhängig sind ¹⁶.

Zu diesem Zweck wurde den Tieren DSS in Konzentrationen von 0, 2.5, 5.5 und 7.5% über sieben Tage verabreicht. In diesem Zusammenhang wurde festgestellt, daß das Ausmaß der Schädigung des Colons mit ansteigender Konzentration zunahm, jedoch keine unmittelbare Korrelation zwischen der aufgenommenen Gesamtmenge an DSS und der Schädigung bestand. Auch andere, typische Merkmale der Erkrankung, insbesondere das

Auftreten von Gewichtsverlust und blutigen Stühlen, sowie die Reduktion der Colonlänge unterlagen ihrer Ansicht nach einer reinen Konzentrationsabhängigkeit.

Vowinkel *et al.*⁵³ widmeten sich 2004 erneut dieser Problematik in Experimenten mit dem C57BL/6J Stamm, wobei ebenfalls über sieben Tage DSS in den Konzentrationen 3% und 5% verabreicht wurde. Sie gelangten zu dem Ergebnis, daß das Erreichen einer bestimmten Schwellendosis erforderlich ist, um eine Colitis zuverlässig induzieren zu können. Die Höhe der Dosis wurde mit 30 mg DSS pro Gramm Körpergewicht beziffert und ist als kumulative Dosis, verabreicht innerhalb eines Zeitraumes von sieben Tagen, zu betrachten. Die tatsächlich konsumierte Dosis ist abhängig von der DSS-Konzentration im Trinkwasser und der aufgenommenen Trinkmenge. Sobald die Schwellendosis erreicht wird, sind nach Ansicht von Vowinkel *et al.* auch geringe Trinkmengenunterschiede im weiteren Verlauf der Versuche vernachlässigbar.

Bei den Versuchen beider Autoren ist zu beachten, daß es sich aufgrund der Gabe des DSS über nur sieben Tage um Modelle einer akuten Colitis handelt. Eine wesentliche Stärke des DSS-Modells ist jedoch dessen Eigenschaft durch die wiederholte zyklische Gabe der Substanz einen chronischen Verlauf der Erkrankung imitieren zu können^{12, 44}. Bislang lagen noch keine publizierten Daten vor, die dosis- oder konzentrationsbedingte Veränderungen über längere Zeit beschreiben. Durch unsere Versuche waren wir in der Lage, dies über einen Zeitraum von bis zu 119 Tagen, entsprechend 7 Verabreichungszyklen, mit unterschiedlich hohen DSS-Konzentrationen (0%, 1%, 3% und 5%) zu untersuchen. Unsere Daten zeigten einen bisher nicht beschriebenen linearen Zusammenhang zwischen der DSS-Konzentration und der innerhalb eines definierten Zeitraumes aufgenommenen DSS-Dosis. Diese Linearität ging scheinbar bei einer DSS-Konzentration von 3 % zwischen dem fünften und siebten Zyklus, beziehungsweise dem dritten und fünften Zyklus bei einer Konzentration von 5 %, verloren. Die Ursache hierfür kann unserer Ansicht nach nicht in signifikanten Unterschieden Trinkmenge liegen, da diese bereits zu wesentlich früheren Zeitpunkten auch bei niedrigerer DSS-Konzentration vorlagen. Obwohl wir Unterschiede der aufgenommenen Trinkwassermenge registrieren konnten, waren diese nicht groß genug, um statistisch signifikante Unterschiede der DSS-Dosis zu bewirken. Wahrscheinlicher ist, daß die hohe Mortalität in diesen Bereichen eine Verzerrung der Daten verursachte. Bei genauerer Betrachtung zeigte sich, daß es sich ausschließlich um jene Gruppen handelte, in denen Tiere vorzeitig verstarben. Die Bestätigung für die Mortalität als Störfaktor sahen wir nach versuchsweiser Anpassung der Daten durch Ausschluss verstorbener Tiere, wodurch der lineare Zusammenhang zwischen Konzentration und Dosis wieder hergestellt war.

Aufgrund dieser Tatsachen gehen wir davon aus, daß die Frage nach einer Dosis- oder Konzentrationsabhängigkeit der Erkrankung in dem von uns gewählten Beobachtungszeitraum hinfällig ist. Die von Vowinkel *et al.*⁵³ festgelegte kritische Schwellendosis von 30 mg/g Körpergewicht können wir hingegen bestätigen. Die Verabreichung von DSS 1% über einen Zyklus (7 Tage DSS + 10 Tage H₂O) reichte während unserer Versuche nicht aus, um eine Colitis zu induzieren. Die kumulative Dosis für diesen Zeitraum lag im Mittel bei 15.26 mg/g Körpergewicht und damit unterhalb der Schwellendosis. Erst nach Verabreichung von drei Zyklen DSS 1% waren Zeichen der Erkrankung nachweisbar. Dies entsprach einer kumulativen DSS-Dosis von 44.50 mg/g und somit einer Überschreitung der Schwellendosis. Im Vergleich hierzu lagen die Werte

der anderen DSS Gruppen mit 46.355 mg/g (DSS 3%) und 62.380 mg/g (DSS 5%) bereits nach einen Zyklus deutlich oberhalb der 30 mg/g Schwelle. Durch die Verabreichung von DSS 3% oder DSS 5% waren wir in der Lage nach nur einem Versuchszyklus eine Colitis zu induzieren, was wir als weiteres Indiz für die Existenz der Schwellendosis werten. Vowinkel et al. schlugen vor, aufgrund der erforderlichen Schwellendosis den Trinkwasserkonsum sorgfältig zu überwachen. Da auch wir zu diesem Zweck die tägliche Trinkmenge registrierten, können wir belegen, daß die initial konsumierten DSS Dosen bei DSS 1% definitiv nicht, bei DSS 3% und DSS 5% jedoch auch ohne Eingreifen des Untersuchers bei weitem ausreichen um die Erkrankung zu induzieren. Eine Überwachung der Trinkmenge ist deshalb aus unserer Sicht ebensowenig erforderlich, wie die Berechnung der DSS-Dosis. Diese Erkenntnis ist sicherlich von großer Bedeutung, da eine der Stärken des Modells die äußerst einfach durchführbare Applikation des DSS über das Trinkwasser ist. Müsste man den Trinkwasserkonsum engmaschig überwachen um während der Versuche Dosisberechnungen durchführen zu können, würde dies einen enorm erhöhten Arbeitsaufwand und gleichzeitig den Verlust eines wesentlichen Vorteils gegenüber anderen Colitismodellen bedeuten.

4.7 Überleben

Während unserer Versuche verstarben 20 von insgesamt 114 Tieren. Die Todesursache ließ sich nicht zweifelsfrei ermitteln, dennoch gehen wir aufgrund unserer Beobachtungen davon aus, daß die Tiere an den Folgen der Erkrankung verstorben sind. Im Vergleich zu überlebenden Tieren boten diese eine wesentlich gravierendere Krankheitssymptomatik dar, die sich in blutigen Durchfällen, massivem Gewichtsverlust und körperlicher Inaktivität äußerte. Daß Tiere durch eine direkte Intoxikation mit Dextran Sulfat verstorben sind können wir ausschließen, da die orale Aufnahme der für Mäuse semiletalen Dosis von 25.2 mg/g Körpergewicht als Bolus nicht möglich ist. Die hierfür erforderliche Trinkmenge läge selbst bei einer DSS Konzentration von 5% jenseits der physiologischen Grenzen. Auch einen möglicherweise negativen Einfluß von Umweltbedingungen, insbesondere der Haltung in Stoffwechselkäfigen, können wir ausschließen. Die Versuchstiere wurden überwiegend in Makrolonkäfigen gehalten und nur für die jeweils letzten zwei Zyklen in Stoffwechselkäfige umgesetzt. Dieses Vorgehen verursachte zwar kurzzeitig psychosozialen Streß, der jedoch maximal zwei Tage andauerte. Bislang existieren auch nur Hinweise dahingehend, daß chronisch intermittierender psychosozialer Streß vor Induktion einer Colitis die Krankheitsaktivität erhöhen und die Regenerationsphase negativ beeinflussen kann⁴⁶.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß die Überlebenswahrscheinlichkeit sowohl von der DSS Konzentration, als auch der Anzahl absolvierter Zyklen abhängig ist.

Der Vergleich der Gruppen DSS 3% und DSS 5% zeigte, daß die kumulative Überlebenswahrscheinlichkeit mit zunehmender Anzahl der Verabreichungszyklen abnahm. Die konzentrationsbedingten Unterschiede wurden am deutlichsten bei Beobachtung der medianen Überlebenszeit. Diese lag für die DSS 3% Gruppe bei 106 Tagen (7. Zyklus) und für die DSS 5% Gruppe bei nur noch 59 Tagen (4. Zyklus). Aufgrund dieser Ergebnisse kommen wir zu dem Entschluß, daß der Dosierung und der Verabreichungsdauer des Dextransulfat besonders im Hinblick auf die

Überlebenswahrscheinlichkeit mehr Aufmerksamkeit gewidmet werden sollte, um unnötige Verluste vermeiden zu können. Wir können belegen, daß bei einer DSS Konzentration von 3% über mehr als 91 Tage (> 5 Zyklen), oder einer DSS Konzentration von 5% über mehr als 25 Tage (> 1 Zyklus) mit einer erhöhten Anzahl verstorbener Tiere zu rechnen ist. Da sich dies, abgesehen von ethischen und finanziellen Aspekten, möglicherweise negativ auf die Interpretierbarkeit der Ergebnisse auswirkt, können wir eine Verwendung von DSS 3 % über mehr als fünf Zyklen, sowie DSS 5 % über mehr als drei Zyklen nicht empfehlen.

4.8 Disease Activity Index (DAI)

Der Disease Activity Index hat sich als einfaches Mittel zur Beschreibung der Krankheitsaktivität im DSS-Modell durchgesetzt. Dieses auf klinischen Beobachtungen basierende Punktesystem wurde 1993 von Cooper *et al.* ¹² im Rahmen einer histopathologischen Studie entwickelt.

Ein Vorteil des DAI ist, daß dieser nicht invasiv gemessen wird und im Gegensatz zu histologischen Punktesystemen einen geringeren zeitlichen und materiellen Aufwand erfordert, was insbesondere bei hohen Fallzahlen von Nutzen ist. Darüberhinaus konnten Cooper *et al.* belegen, daß die Punktzahl des DAI sowohl im akuten, als auch im chronischen DSS-Modell signifikant mit den histopathologischen Veränderungen des Colons korreliert. Durch unsere Versuche können wir diesen Zusammenhang ebenfalls bestätigen. Sowohl die Mittelwerte des Entzündungs- als auch des Gewebescores, bezogen auf alle Darmabschnitte, korrelierten statistisch signifikant mit dem DAI. Desweiteren war zu beobachten, daß die Höhe des DAI sowohl von der DSS-Konzentration, als auch der Verabreichungsdauer abhängig war.

In Versuchen mit 5 unterschiedlichen Mausstämmen, darunter auch BALB/c Mäuse, bestätigten Stevceva *et al.* die Zuverlässigkeit des DAI und schlugen vor, diesen aufgrund des unterschiedlich ausfallenden Gewichtsverlustes bei verschiedenen Stämmen um einen zusätzlichen Faktor zu erweitern ⁵⁰. Zu diesem Zweck wurde für die verwendeten Mausstämme durch Korrelation mit dem histopathologischen Bild jeweils ein sogenannter „weight gain factor“ ermittelt, der mit dem täglichen Gewichtsverlust multipliziert wird. Diese adaptierte Form bietet möglicherweise Vorteile, wenn verschiedene Stämme verglichen werden sollen. Für unsere Versuche verwendeten wir jedoch die ursprüngliche Version des DAI nach Cooper *et al.* ¹², da dessen Validität gesichert ist und wir darüberhinaus ausschließlich mit BALB/c Mäusen arbeiteten.

Während die Korrelation mit dem histopathologischen Bild der Erkrankung bereits beschrieben ist, waren wir zudem in der Lage auch eine statistisch signifikante Korrelation des DAI mit krankheitsbedingten makroskopischen Veränderungen nachzuweisen. Wir untersuchten, ob ein Zusammenhang zwischen dem DAI und der Colonlänge oder dem Milzgewicht besteht. Bei beiden Merkmalen handelt es sich um charakteristische Organveränderungen, die im DSS-Modell obligat auftreten. Wir konnten durch unsere Versuche zeigen, daß auch diese beiden Parameter statistisch signifikant mit den Werten des DAI korrelieren.

Durch Verwendung des DAI ist somit nicht nur eine klinische Einstufung des Erkrankungsgrades, sondern letztendlich auch eine Abschätzung des zu erwartenden makroskopischen und histopathologischen Bildes möglich.

4.9 Histologie

Die histologische Auswertung unserer Versuche ergab, daß sich die Erkrankung vorwiegend im Colon descendens und Colon sigmoideum manifestierte. Der Grad der Entzündung, sowie das Ausmaß des Gewebeschadens, jeweils ausgedrückt durch ein histologisches Punktesystem, zeigten eine deutliche Konzentrations- und Zeitabhängigkeit. Zeichen der Entzündung fanden sich zwar im gesamten Colon, jedoch mit starker linksseitiger Betonung. Während mäßig bis schwache Zeichen der Entzündung durchaus auch im Colon ascendens und Colon transversum zu beobachten waren, beschränkte sich die Ausdehnung des Gewebeschadens auf das Colon descendens und Colon sigmoideum. Sowohl die Entzündung, als auch der Gewebeschaden waren im Colon sigmoideum am deutlichsten zu erkennen.

Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen von Okayasu *et al.* ⁴⁴, die ebenfalls von einem bevorzugt linksseitigen Befall des Colons berichteten. Die Lokalisation der Colitis ist sowohl vom verwendeten Mausstamm, als auch dem verwendeten DSS Molekulargewicht abhängig ^{30, 44}. Aufgrund dieser Ergebnisse ist davon auszugehen, daß sowohl die Wahl von BALB/c Mäusen, als auch die Verwendung eines DSS Molekulargewichtes von 40 kD, im Rahmen unserer Versuche die linksseitige Ausprägung bedingt haben. Entgegen den Ausführungen von Cooper *et al.*, die eine Entzündung des Colons als sekundäres Phänomen nach initialem Verlust des basalen Drittels der Krypten beschrieben, sahen wir insbesondere im Colon descendens deutliche Zeichen der Entzündung bei vergleichsweise geringem oder gänzlich fehlenden Gewebeschaden ¹². So führte die Verabreichung von DSS 1% über drei Zyklen zu ersten Anzeichen einer Entzündung, jedoch nicht zu nennenswerten Läsionen der Colonschleimhaut. Dieses Bild wandelte sich erst mit zunehmender Verabreichungsdauer und in höheren Konzentrationsbereichen, wobei die Entzündung den Gewebeschaden stets dominierte. Desweiteren konnten Cooper *et al.* bei Beschreibung des chronischen Telexperimentes ihrer Studie keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Entzündungs- und des Gewebeschadenscores zwischen Gruppen mit unterschiedlich langer Verabreichungsdauer feststellen. Auch dieser Stelle kamen wir zu abweichenden Ergebnissen, da wir sowohl eine Zeitabhängigkeit des Entzündungsgrades, als auch des Gewebeschadens registrieren konnten.

Die Tatsache, daß sich unsere Ergebnisse nicht mit denen von Cooper *et al.* ¹² decken, könnte möglicherweise an der Verwendung unterschiedlicher Mausstämmen liegen.

Da wir in unserem Experiment nicht nur die Verabreichungsdauer, sondern auch die DSS Konzentration variierten, waren wir in der Lage, histologische Veränderungen in Abhängigkeit dieses Parameters zu untersuchen. Hierbei konnten wir feststellen, daß zwischen allen Gruppen statistisch signifikante Unterschiede in Bezug auf den Entzündungs- und auch auf den Gewebeschadenscore bestanden, mit Ausnahme der Gruppen DSS 3% und DSS 5%, die annähernd gleiche Werte erreichten.

4.10 Colonlänge

Die mit Abstand am häufigsten beschriebene Organveränderung im Rahmen der DSS induzierten Colitis am Modell der Maus ist eine Verkürzung des Colons⁴⁴. Obwohl diese Veränderung in nahezu jeder Publikation, die sich mit dem DSS Modell befaßt, erwähnt wird, finden sich in der Literatur nur wenig detaillierte Beschreibungen über die Einflußfaktoren auf die Colonlänge. Auch über die Ursachen, die zu einer Verkürzung des Colons führen ist bislang wenig bekannt. Man geht davon aus, daß die Abnahme der Colonlänge letztendlich aus einer Verdickung der Darmwand resultiert. Diese wiederum ist als Folge einer akuten oder chronischen Entzündung zu betrachten, im Rahmen derer eine Infiltration der Darmwand mit Entzündungszellen stattfindet. Durch ödematöse Schwellung, muskuläre Hypertrophie, sowie Fibrose der betroffenen Darmsegmente kommt es möglicherweise zu einer Verkürzung des Colons^{11, 39}. Okayasu *et al.*⁴⁴ beschrieben in ihrer Studie die Auswirkung der DSS Konzentration auf die Colonlänge und berichteten, daß die Colonlänge sowohl im akuten, als auch im chronischen Stadium der Erkrankung abnimmt. Dies bestätigen auch unsere Ergebnisse. Wir sahen eine statistisch signifikante, konzentrationsabhängige Verkürzung des Colons gegenüber der Kontrollgruppe, bei allen Tieren die DSS erhielten. Die frühesten Veränderungen zeigten sich innerhalb der DSS 3% und der DSS 5% Gruppe bereits nach einem Zyklus. Bei einer Konzentration von 1% hingegen konnten wir erst nach drei Zyklen eine Reduktion der Colonlänge feststellen. Diese Beobachtung steht in Einklang mit unserer Aussage, daß die Gabe von DSS 1% über einen Zyklus nicht ausreichend ist, um eine Colitis zu induzieren. Die DSS 5% Gruppe hingegen entzog sich jeder zeitlichen Konzentrations-Wirkungsbeziehung. Nach nur einem Zyklus erfolgte bereits eine massive Verkürzung des Colons, die deutlich gravierender als in den übrigen Gruppen ausfiel. Die mehrfache, zyklische Verabreichung von DSS 5% bewirkte aber keine weitere signifikante Reduktion Colonlänge gegenüber Tieren, die nur einen Zyklus DSS 5% erhielten. Aufgrund der experimentellen Rahmenbedingungen konnte die Colonlänge nur bei 7 von insgesamt 20 verstorbenen Tieren gemessen werden. Es ist davon auszugehen, daß die zum Teil mangelnde statistische Signifikanz einiger Ergebnisse auf fehlenden Meßwerten beruht.

4.11 Körpergewicht

Gewichtsverluste treten im DSS-Modell regelhaft in Erscheinung und werden deshalb in der Literatur häufig erwähnt. Meist handelt es sich jedoch um Beschreibungen von Akutmodellen, wobei DSS nur über wenige Tage und nicht zyklisch über längere Zeiträume verabreicht wird. Langzeitverläufe des Körpergewichtes sind deshalb nur unzulänglich beschrieben, während die Veränderungen zu Beginn der Erkrankung gut charakterisiert sind. Okayasu *et al.* zeigten, daß die Verabreichung von DSS in Konzentrationen zwischen 5 % und 10 % über acht bis neun Tage zu Verlusten des Körpergewichtes führen⁴⁴. Diese Beobachtung können wir bestätigen und darüberhinaus belegen, daß bereits die siebentägige Verabreichung einer DSS-Konzentration von 3 % ausreichend ist, um einen vorübergehenden Gewichtsverlust herbeizuführen. Im Langzeitverlauf registrierten wir zyklische Schwankungen des Körpergewichtes, die unserer Ansicht nach den Wechsel zwischen akuter Entzündung und partieller Remission exakt abbilden. Die Höhe der Gewichtsverluste wurde durch die DSS-Konzentration bestimmt. Durch Glättung der

zyklischen Schwankungen konnten wir zeigen, daß es sich um temporäre Gewichtsverluste bei einer generell ansteigenden Wachstumskurve handelte. Lediglich Tiere, die DSS in einer Konzentration von 3 % über sieben Zyklen, oder DSS 5 % über fünf Zyklen erhielten, verloren dauerhaft an Gewicht. Zu einem vergleichbaren Ergebnis kam auch die Gruppe um Okayasu, wobei auch sie bis zu einer Verabreichungsdauer von 3 Zyklen bei DSS 5 % noch einen geringen Gewichtszuwachs verzeichnen konnten ⁴⁴. Sowohl die DSS-Konzentration, als auch die Anzahl der Zyklen wirkte sich während unserer Versuche nur in den zwei bereits genannten Fällen in Form eines tatsächlichen Gewichtsverlustes aus. Es wurde jedoch deutlich, daß ein starker negativer Einfluß auf den Gewichtszuwachs bestand, der sich auch in den Mittelwerten des Körpergewichtes der verschiedenen DSS-Gruppen widerspiegelte.

4.12 Milzgewicht

In zahlreichen Studien, die das Modell der DSS induzierten Colitis verwendeten, trat bei den Versuchstieren neben den bereits beschriebenen Organveränderungen auch eine Zunahme des Milzgewichts auf ^{5, 31, 34, 40, 43, 44}. Obgleich eine Splenomegalie nicht zu den Manifestationsformen chronisch entzündlicher Darmerkrankungen beim Menschen zu zählen ist, tritt sie in diesem Modell regelmäßig in Erscheinung. Okayasu *et al.* wiesen durch ihre Versuche mit BALB/c und CBA/J Mäusen nach, daß erkrankte Tiere im Durchschnitt ein 1.5- bis 2-fach höheres Milzgewicht als gesunde Kontrolltiere aufwiesen ⁴⁴. Durch *in vitro* Experimente konnten sie darüberhinaus zeigen, daß DSS (0.1% über 24h) von Makrophagen in der Milz und auch in Mesenteriallymphknoten phagozytiert wird, wobei die Makrophagen dabei erheblich an Größe zunehmen. In einer weiteren Studie untersuchten Ohkusa *et al.* dies genauer und beschrieben, daß DSS sich negativ auf die phagozytotische Aktivität von Makrophagen gegenüber Enterobakterien auswirkt, wodurch entzündliche Veränderungen und bleibende Ulzerationen der Colonschleimhaut entstehen könnten ⁴³. Krieglstein *et al.* ³⁴ untersuchten 2001 in einer Studie mit C57BL/6 Mäusen die Rolle von Appendix und Milz in Bezug auf das DSS Modell.

Diese Ergebnisse deuten wiederum darauf hin, daß die Milz nicht entscheidend an der Pathogenese beteiligt ist, zumal splenektomierte Mäuse identische makroskopische und histologische Veränderungen aufwiesen, wie nicht splenektomierte Tiere ³⁴. Die Entfernung der Milz bewirkte lediglich eine abgeschwächte Entzündungsreaktion innerhalb der ersten 2 bis 4 Tage der Erkrankung. Dennoch verdeutlichte diese Studie erneut die unmittelbare Korrelation zwischen dem Grad der Entzündung und dem Milzgewicht, wobei Krieglstein *et al.* die Veränderungen der Milz eher als Folge, denn als Auslöser der Entzündung betrachten. Da die Rolle der Milz bezüglich der Pathogenese der DSS induzierten Colitis bei weitem nicht vollständig geklärt ist, beschränkten sich unsere Versuche auf den Nachweis von Veränderungen des Milzgewichts in Abhängigkeit der DSS Konzentration. Wir beobachteten eine konzentrations- und zeitbedingte Zunahme des Milzgewichtes. Auch das Milzgewicht der DSS 5% stieg erwartungsgemäß gegenüber der Kontrollgruppe an, lag aber unterhalb der Werte der DSS 3% Gruppe. Diese Abweichung könnte dadurch bedingt sein, daß die Milz bei sehr hoher Aktivität der Entzündung zwar zunächst an Größe und Gewicht zunimmt, aber bei lange anhaltender, schwerer Erkrankung jedoch durchaus auch zur Atrophie neigt ⁵.

4.13 Trinkwasserkonsum

Wie wir bereits belegen konnten, sind Unterschiede bezüglich der täglich konsumierten Trinkwassermenge im DSS-Modell nur von untergeordneter Bedeutung. Dennoch konnten wir in diesem Zusammenhang bisher nicht beschriebene Auswirkungen der Gabe von DSS auf den Trinkwasserkonsum beobachten. Zwischen den einzelnen Gruppen bestanden häufig statistisch signifikante Unterschiede. Zusätzlich fiel auf, daß alle Tiere die DSS erhielten weniger tranken als die Kontrollgruppe, die normales Trinkwasser erhielt. Im zeitlichen Verlauf wurde darüberhinaus deutlich, daß ähnlich wie bei Messung des Körpergewichtes, auch hier zyklische Schwankungen auftraten. Die konsumierte Trinkwassermenge nahm jeweils am ersten Zyklustag ab und verweilte für die gesamte Dauer der DSS Gabe auf niedrigem Niveau. Bei der Umstellung auf reines Trinkwasser stieg der Wasserverbrauch wieder stark an. Melgar et al. fanden durch Messungen in einem kalorimetrischen System heraus, daß Mäuse, die akut durch DSS erkrankt sind weniger Nahrung und Trinkwasser aufnehmen, als gesunde Kontrolltiere ³⁹. Eine weitere mögliche Erklärung wäre, daß DSS entgegen anderen Angaben einen Eigengeschmack besitzt, den die Tiere ablehnen. Letztendlich dürfte dies jedoch nicht die Ergebnisse beeinflussen, sofern keine alternative Trinkwasserquelle zur Verfügung steht.

4.14 Urinausscheidung

Wir beobachteten einen Rückgang der ausgeschiedenen Urinmenge in Abhängigkeit der DSS-Konzentration. Der Zeitfaktor hatte hingegen nur geringen Einfluss. Da Tiere, die hohe Konzentrationen erhielten, weniger tranken, wurde bei der statistischen Auswertung der Urinmenge auch die Trinkmenge jedes Tieres berücksichtigt. Auffallend war, daß die Urinproduktion nicht dauerhaft zurückging, sondern nur wenn DSS verabreicht wurde. Zeitpunkte der geringsten Ausscheidung fanden sich am ersten und siebten Zyklustag. Mit Beginn der Gabe von normalem Trinkwasser stieg die Urinproduktion wieder langsam an und erreichte gegen Zyklusende den Normalzustand. Wir sind der Ansicht, daß die Ursache hierfür nicht in einer verminderten Trinkmenge liegt, sondern vielmehr in erkrankungsbedingten Flüssigkeitsverlusten, bedingt durch Diarrhoe und intestinale Blutverluste. Hinweise auf eine mögliche Nephrotoxizität von DSS sind in der gegenwärtigen Literatur nicht beschrieben.

5 Zusammenfassung

In dieser Studie charakterisieren wir das Modell einer Colitis bei BALB/c Mäusen mittels oraler Applikation von Dextransulfat (DSS) über das Trinkwasser. Obgleich diese Modell weite Verbreitung gefunden hat, lagen bislang keine detaillierten Daten vor, wie eine Colitis zuverlässig mit definiertem Aktivitätsgrad zu induzieren ist. Ziel dieser Arbeit ist es, eine solide Grundlage für die Planung und Durchführung zukünftiger Studien zu schaffen, in denen das DSS-Modell verwendet werden soll.

Im Rahmen der Versuche wurde die Auswirkung von Variationen der DSS-Konzentration und der Verabreichungsdauer auf bestimmte Zielkriterien untersucht.

Aus 114 weiblichen BALB/c Mäusen mit einem durchschnittlichen Gewicht von 20 g wurden vier Gruppen gebildet, die entweder reines H₂O, oder DSS-Lösung in einer Konzentration von 1%, 3%, oder 5% während der ersten sieben Zyklostage erhielten.

In den verbleibenden zehn Zyklostagen erhielten alle Tiere reines H₂O. Jede dieser Gruppen wurde in vier Untergruppen unterteilt, die über 1, 3, 5, oder 7 Zyklen beobachtet wurden.

Die DSS-Konzentration hatte dabei einen entscheidenden Einfluß auf das Überleben der Tiere, so verstarben 16.7% der Tiere der DSS 3% Gruppe und 38.9% der Tiere der DSS 5% Gruppe vorzeitig. Die mediane Überlebenszeit sank von 106 Tagen (DSS 3%) auf 59 Tage (DSS 5%). Alle Tiere der H₂O und DSS 1% Gruppe überlebten.

Nach Sektion wurde die Colonlänge gemessen und bei der statistischen Auswertung die Überlebenszeit jedes Tieres berücksichtigt. Die Länge des Colons nahm dabei in Abhängigkeit der DSS-Konzentration und Anzahl der Zyklen ab.

Statistisch signifikante Unterschiede bestanden zwischen allen Gruppen mit unterschiedlicher DSS-Konzentration, sowie in den Gruppen DSS 1% und DSS 3% bezüglich der Verabreichungsdauer.

Zur Beschreibung der Krankheitsaktivität wurde der Disease Activity Index (DAI) verwendet. Der Punktwert des DAI nahm mit ansteigender DSS-Konzentration zu und wies statistisch signifikante Unterschiede zwischen den DSS-Gruppen auf. Die unterschiedliche Anzahl absolvierter Zyklen erreichte in den Gruppen DSS 1% und DSS 3% statistische Signifikanz. Die Werte des DAI korrelierten mit dem histologischen Entzündungsscore ($r = 0.836$, $r^2 = 0.700$, $p < 0.001$) und dem Gewebeschadensscore ($r = 0.857$, $r^2 = 0.706$, $p < 0.001$).

Desweiteren bestand eine negative Korrelation mit der Colonlänge ($r = -0.837$, $r^2 = 0.700$, $p < 0.001$), sowie eine positive Korrelation mit dem Milzgewicht ($r = 0.816$, $r^2 = 0.667$, $p < 0.001$).

Die histologische Begutachtung des Colons zeigte eine überwiegend linksseitige Manifestation der Erkrankung. Hierbei wurde zwischen Zeichen der Entzündung und

manifestem Gewebeschaden unterschieden und dies entsprechend durch einen histologischen Entzündungs-, beziehungsweise Gewebeschadensscore abgebildet. Beide Parameter stiegen mit zunehmender DSS-Konzentration statistisch signifikant an. Variationen der Verabreichungsdauer bewirkten nur vereinzelt statistisch signifikante Unterschiede.

Das Körpergewicht der Tiere beschrieb zyklische Schwankungen, deren Höhe mit ansteigender DSS-Konzentration zunahm. Die Mittelwerte des Körpergewichtes der DSS-Gruppen wiesen bis auf eine Ausnahme statistisch signifikante Unterschiede auf. Die Überlebenszeit jedes Tieres wurde bei Auswertung der Daten berücksichtigt. Nach Glättung der zyklischen Schwankungen zeigte sich im zeitlichen Verlauf bei allen Gruppen, außer der DSS 5% Gruppe, eine ansteigende Wachstumskurve. Sowohl die DSS-Konzentration, als auch die Verabreichungsdauer wirkten sich jedoch negativ auf den Gewichtszuwachs aus und verursachten statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

Zusammenfassend betrachtet stellen sowohl das Körpergewicht, als auch die Colonlänge die beiden wichtigsten und gleichsam mit unter am einfachsten zu erfassenden Indikatoren für die Aktivität der Erkrankung im DSS-Modell dar. Die Variation der verwendeten DSS-Konzentration gab Aufschluss darüber, welche Konzentrationsbereiche für die Durchführung ähnlich angelegter Studien sinnvoll sind. Eine wesentliche Erkenntnis in diesen Zusammenhang ist die Beobachtung, daß DSS-Konzentrationen im Bereich von 5 % nur eine geringe Steigerung der Colitisaktivität bewirken, die Mortalität unter diesen Bedingungen jedoch enorm ansteigt. Eine auf unseren Daten basierende Empfehlung für Studien, die auf Langzeitverläufe sowie die Beobachtung anatomischer und funktioneller Veränderungen ausgerichtet sind, lautet deshalb DSS-Konzentrationen zwischen 1 % und 3 % zu wählen. In diesem Bereich herrscht ein ausgewogenes Verhältnis zwischen ausreichend hoher Krankheitsaktivität und äußerst geringer Sterblichkeit. Insbesondere für ausgedehnte Langzeitverläufe scheint eine DSS-Konzentration von 1 % bestens geeignet, da nicht mit vorzeitig verstorbenen Tieren zu rechnen ist. Steht hingegen nur die Überlebensdauer im Mittelpunkt des Interesses, so sind Konzentrationen von über 3 % zu bevorzugen, um fulminante Krankheitsverläufe von kurzer Dauer herbeizuführen.

6 Referenzliste

1. Abadia-Molina AC, Ji H, Faubion WA, Julien A, Latchman Y, Yagita H, Sharpe A, Bhan AK, Terhorst C. CD48 controls T-cell and antigen-presenting cell functions in experimental colitis. *Gastroenterology* 2006;130:424-434.
2. Annese V, Valvano MR, Palmieri O, Latiano A, Bossa F, Andriulli A. Multidrug resistance 1 gene in inflammatory bowel disease: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2006;12:3636-3644.
3. Araki Y, Sugihara H, Hattori T. In vitro effects of dextran sulfate sodium on a Caco-2 cell line and plausible mechanisms for dextran sulfate sodium-induced colitis. *Oncol Rep* 2006;16:1357-1362.
4. Arseneau KO, Pizarro TT, Cominelli F. Discovering the cause of inflammatory bowel disease: lessons from animal models. *Curr Opin Gastroenterol* 2000;16:310-317.
5. Axelsson LG, Landstrom E, Bylund-Fellenius AC. Experimental colitis induced by dextran sulphate sodium in mice: beneficial effects of sulphasalazine and olsalazine. *Aliment Pharmacol Ther* 1998;12:925-934.
6. Blumberg RS, Saubermann LJ, Strober W. Animal models of mucosal inflammation and their relation to human inflammatory bowel disease. *Curr Opin Immunol* 1999;11:648-656.
7. Boirivant M, Fuss IJ, Chu A, Strober W. Oxazolone colitis: A murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4. *J Exp Med* 1998;188:1929-1939.
8. Boismenu R, Chen Y. Insights from mouse models of colitis. *J Leukoc Biol* 2000;67:267-278.
9. Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003;3:521-533.
10. Byrne FR, Viney JL. Mouse models of inflammatory bowel disease. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2006;9:207-217.
11. Cho JY, Chang HJ, Lee SK, Kim HJ, Hwang JK, Chun HS. Amelioration of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by oral administration of beta-caryophyllene, a sesquiterpene. *Life Sci* 2007;80:932-939.
12. Cooper HS, Murthy SN, Shah RS, Sedergran DJ. Clinicopathologic study of dextran sulfate sodium experimental murine colitis. *Lab Invest* 1993;69:238-249.
13. Danska JS. The T cell receptor: structure, molecular diversity and somatic localization. *Curr Opin Immunol* 1989;2:81-86.
14. Dieleman LA, Palmen MJ, Akol H, Bloemena E, Pena AS, Meuwissen SG, Van Rees EP. Chronic experimental colitis induced by dextran sulphate sodium (DSS) is characterized by Th1 and Th2 cytokines. *Clin Exp Immunol* 1998;114:385-391.
15. Dieleman LA, Pena AS, Meuwissen SG, Van Rees EP. Role of animal models for the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1997;223:99-104.

16. Egger B, Bajaj-Elliott M, MacDonald TT, Inglin R, Eysselein VE, Buchler MW. Characterisation of acute murine dextran sodium sulphate colitis: cytokine profile and dose dependency. *Digestion* 2000;62:240-248.
17. Elson CO, Cong Y, Lorenz R, Weaver CT. New developments in experimental models of inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2004;20:360-367.
18. Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, Dimmitt RA, Lorenz RG, Weaver CT. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev* 2005;206:260-276.
19. Elson CO, Cong Y, Weaver CT, Schoeb TR, McClanahan TK, Fick RB, Kastelein RA. Monoclonal anti-interleukin 23 reverses active colitis in a T cell-mediated model in mice. *Gastroenterology* 2007;132:2359-2370.
20. Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;109:1344-1367.
21. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, Yang Z, Exley M, Kitani A, Blumberg RS, Mannon P, Strober W. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004;113:1490-1497.
22. Heller F, Fuss IJ, Nieuwenhuis EE, Blumberg RS, Strober W. Oxazolone colitis, a Th2 colitis model resembling ulcerative colitis, is mediated by IL-13-producing NK-T cells. *Immunity* 2002;17:629-638.
23. Hendrickson EA. The SCID mouse: relevance as an animal model system for studying human disease. *Am J Pathol* 1993;143:1511-1522.
24. Hibi T, Ogata H, Sakuraba A. Animal models of inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol* 2002;37:409-417.
25. Hoffmann JC, Pawlowski NN, Kuhl AA, Hohne W, Zeitz M. Animal models of inflammatory bowel disease: an overview. *Pathobiology* 2002;70:121-130.
26. Horwitz BH. The straw that stirs the drink: Insight into the pathogenesis of inflammatory bowel disease revealed through the study of microflora-induced inflammation in genetically modified mice. *Inflamm Bowel Dis* 2007;13:490-500.
27. Jurjus AR, Khoury NN, Reimund JM. Animal models of inflammatory bowel disease. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2004;50:81-92.
28. Kitajima S, Morimoto M, Sagara E, Shimizu C, Ikeda Y. Dextran sodium sulfate-induced colitis in germ-free IqI/Jic mice. *Exp Anim* 2001;50:387-395.
29. Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Changes in colonic mucosal permeability in mouse colitis induced with dextran sulfate sodium. *Exp Anim* 1999;48:137-143.
30. Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Histological analysis of murine colitis induced by dextran sulfate sodium of different molecular weights. *Exp Anim* 2000;49:9-15.
31. Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Tissue distribution of dextran sulfate sodium (DSS) in the acute phase of murine DSS-induced colitis. *J Vet Med Sci* 1999;61:67-70.

32. Kojima R, Kuroda S, Ohkishi T, Nakamaru K, Hatakeyama S. Oxazolone-induced colitis in BALB/C mice: a new method to evaluate the efficacy of therapeutic agents for ulcerative colitis. *J Pharmacol Sci* 2004;96:307-313.
33. Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004;21:467-476.
34. Kriegelstein CF, Cerwinka WH, Laroux FS, Grisham MB, Schurmann G, Bruwer M, Granger DN. Role of appendix and spleen in experimental colitis. *J Surg Res* 2001;101:166-175.
35. Kucharzik T, Maaser C, Luger A, Kagnoff M, Mayer L, Targan S, Domschke W. Recent understanding of IBD pathogenesis: implications for future therapies. *Inflamm Bowel Dis* 2006;12:1068-1083.
36. Mähler M, Bristol IJ, Sundberg JP, Churchill GA, Birkenmeier EH, Elson CO, Leiter EH. Genetic analysis of susceptibility to dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Genomics* 1999;55:147-156.
37. Mahler M, Bristol IJ, Leiter EH, Workman AE, Birkenmeier EH, Elson CO, Sundberg JP. Differential susceptibility of inbred mouse strains to dextran sulfate sodium-induced colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 1998;274:G544-G551.
38. Marshall D, Cameron J, Lightwood D, Lawson AD. Blockade of colony stimulating factor-1 (CSF-1) leads to inhibition of DSS-induced colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006.
39. Melgar S, Bjursell M, Gerdin AK, Svensson L, Michaelsson E, Bohlooly Y. Mice with experimental colitis show an altered metabolism with decreased metabolic rate. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;292:G165-G172.
40. Melgar S, Karlsson A, Michaelsson E. Acute colitis induced by dextran sulfate sodium progresses to chronicity in C57BL/6 but not in BALB/c mice: correlation between symptoms and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;288:G1328-G1338.
41. Nonoyama S, Smith FO, Bernstein ID, Ochs HD. Strain-dependent leakiness of mice with severe combined immune deficiency. *J Immunol* 1993;150:3817-3824.
42. Ogawa A, Andoh A, Araki Y, Bamba T, Fujiyama Y. Neutralization of interleukin-17 aggravates dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Clin Immunol* 2004;110:55-62.
43. Ohkusa T, Okayasu I, Tokoi S, Araki A, Ozaki Y. Changes in bacterial phagocytosis of macrophages in experimental ulcerative colitis. *Digestion* 1995;56:159-164.
44. Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 1990;98:694-702.
45. Podolsky DK. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2002;347:417-429.
46. Reber SO, Obermeier F, Straub HR, Falk W, Neumann ID. Chronic intermittent psychosocial stress (social defeat/overcrowding) in mice increases the severity of an acute DSS-induced colitis and impairs regeneration. *Endocrinology* 2006;147:4968-4976.
47. Sands BE. Inflammatory bowel disease: past, present, and future. *J Gastroenterol* 2007;42:16-25.

48. Sartor RB. Mechanisms of disease: pathogenesis of Crohn's disease and ulcerative colitis. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006;3:390-407.
49. Sartor RB, Blumberg RS, Braun J, Elson CO, Mayer LF. CCFA Microbial-Host Interactions Workshop: Highlights and key observations. *Inflamm Bowel Dis* 2007.
50. Stevceva L, Pavli P, Buffinton G, Wozniak A, Doe WF. Dextran sodium sulphate-induced colitis activity varies with mouse strain but develops in lipopolysaccharide-unresponsive mice. *J Gastroenterol Hepatol* 1999;14:54-60.
51. Strober W, Fuss I, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 2007;117:514-521.
52. Strober W, Fuss IJ, Blumberg RS. The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu Rev Immunol* 2002;20:495-549.
53. Vowinkel T, Kalogeris TJ, Mori M, Kriegelstein CF, Granger DN. Impact of dextran sulfate sodium load on the severity of inflammation in experimental colitis. *Dig Dis Sci* 2004;49:556-564.
54. Welcker K, Martin A, Kolle P, Siebeck M, Gross M. Increased intestinal permeability in patients with inflammatory bowel disease. *Eur J Med Res* 2004;9:456-460.

7 Anhang

7.1 Körpergewicht

DSS-Konzentration [%]	Körpergewicht [g]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	23.431	0.354	22.730	24.132	6
1	22.558	0.145	22.271	22.845	36
3	21.375	0.147	21.083	21.666	36
5	20.374	0.145	20.085	20.662	36

Anhangtabelle 1: Mittelwerte des Körpergewichtes der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
0	1	0.873	0.382	0.146	-0.154	1.900
	3	2.056 *	0.382	0.000	1.028	3.084
	5	3.057 *	0.383	0.000	2.029	4.085
1	0	-0.873	0.382	0.146	-1.900	0.154
	3	1.183 *	0.208	0.000	0.625	1.741
	5	2.184 *	0.204	0.000	1.635	2.733
3	0	-2.056 *	0.382	0.000	-3.084	-1.028
	1	-1.183 *	0.208	0.000	-1.741	-0.625
	5	1.001 *	0.209	0.000	0.439	1.563
5	0	-3.057 *	0.383	0.000	-4.085	-2.029
	1	-2.184 *	0.204	0.000	-2.733	-1.635
	3	-1.001 *	0.209	0.000	-1.563	-0.439

Anhangtabelle 2: Mittelwerte des Körpergewichtes der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

7.2 Gewichtszuwachs

DSS-Konzentration [%]	Gewichtszuwachs [%]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	18.267	4.193	9.956	26.578	6
1	11.356	1.716	7.954	14.757	36
3	2.425	1.742	-1.028	5.878	36
5	-1.844	1.725	-5.263	1.575	36

Anhangtabelle 3: Mittelwerte des prozentualen Gewichtszuwachses der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	Zyklen [n]	Gewichtszuwachs [%]	Standard- fehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Unter- grenze	Ober- grenze	
0	3	3.501	4.641	-11.267	18.269	2
	5	24.693	4.641	9.925	39.461	2
	7	27.143	4.641	12.375	41.911	2
1	1	9.220	2.057	5.030	13.409	9
	3	5.469	2.057	1.280	9.658	9
	5	12.778	2.057	8.588	16.967	9
	7	16.861	2.057	12.672	21.051	9
3	1	9.952	3.870	2.070	17.834	9
	3	3.903	3.870	-3.979	11.785	9
	5	5.824	3.870	-2.058	13.706	9
	7	-7.106	3.870	-14.989	0.776	9
5	1	2.346	3.031	-3.822	8.513	9
	3	2.838	3.031	-3.329	9.005	9
	5	-7.228	2.143	-11.589	-2.867	18

Anhangtabelle 4: Mittelwerte des prozentualen Gewichtszuwachses der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standard- fehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
0	1	6.912	4.533	0.781	-5.270	19.093
	3	15.843 *	4.535	0.004	3.656	28.029
	5	20.111 *	4.538	0.000	7.916	32.306
1	0	-6.912	4.533	0.781	-19.093	5.270
	3	8.931 *	2.462	0.003	2.315	15.547
	5	13.199 *	2.422	0.000	6.690	19.708
3	0	-15.843 *	4.535	0.004	-28.029	-3.656
	1	-8.931 *	2.462	0.003	-15.547	-2.315
	5	4.268	2.480	0.529	-2.397	10.933
5	0	-20.111 *	4.538	0.000	-32.306	-7.916
	1	-13.199 *	2.422	0.000	-19.708	-6.690
	3	-4.268	2.480	0.529	-10.933	2.397

Anhangtabelle 5: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse des prozentualen Gewichtszuwachses. Das Gewicht jedes Tieres bei Versuchsbeginn wurde als Covariate in die Berechnung einbezogen.

DSS-Konzentration [%]	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
0	3	5	-21.192	6.563	0.145	-53.065	10.680
		7	-23.642	6.563	0.110	-55.515	8.230
	5	3	21.192	6.563	0.145	-10.680	53.065
		7	-2.450	6.563	1.000	-34.322	29.423
	7	3	23.642	6.563	0.110	-8.230	55.515
		5	2.450	6.563	1.000	-29.423	34.322
1	1	3	3.751	2.909	1.000	-4.429	11.931
		5	-3.558	2.909	1.000	-11.738	4.622
		7	-7.642	2.909	0.079	-15.821	0.538
	3	1	-3.751	2.909	1.000	-11.931	4.429
		5	-7.309	2.909	0.103	-15.489	0.871
		7	-11.392 *	2.909	0.003	-19.572	-3.212
	5	1	3.558	2.909	1.000	-4.622	11.738
		3	7.309	2.909	0.103	-0.871	15.489
		7	-4.084	2.909	1.000	-12.263	4.096
	7	1	7.642	2.909	0.079	-0.538	15.821
		3	11.392 *	2.909	0.003	3.212	19.572
		5	4.084	2.909	1.000	-4.096	12.263
3	1	3	6.049	5.472	1.000	-9.341	21.439
		5	4.128	5.472	1.000	-11.262	19.519
		7	17.059 *	5.472	0.023	1.668	32.449
	3	1	-6.049	5.472	1.000	-21.439	9.341
		5	-1.921	5.472	1.000	-17.311	13.470
		7	11.010	5.472	0.316	-4.381	26.400
	5	1	-4.128	5.472	1.000	-19.519	11.262
		3	1.921	5.472	1.000	-13.470	17.311
		7	12.930	5.472	0.146	-2.460	28.321
	7	1	-17.059 *	5.472	0.023	-32.449	-1.668
		3	-11.010	5.472	0.316	-26.400	4.381
		5	-12.930	5.472	0.146	-28.321	2.460
5	1	3	-0.493	4.287	1.000	-11.305	10.320
		5	9.574 *	3.713	0.044	0.210	18.938
	3	1	0.493	4.287	1.000	-10.320	11.305
		5	10.067 *	3.713	0.032	0.703	19.430
	5	1	-9.574 *	3.713	0.044	-18.938	-0.210
		3	-10.067 *	3.713	0.032	-19.430	-0.703

Anhangtabelle 6: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse des prozentualen Gewichtszuwachses unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

7.3 Colonlänge

DSS-Konzentration [%]	Colonlänge [cm]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	17,404	0.555	16.303	18.506	6
1	12,857	0.225	12.410	13.305	36
3	10,262	0.240	9.787	10.738	31
5	8,956	0.262	8.437	9.476	28

Anhangtabelle 7: Mittelwerte der Colonlänge der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	Zyklen [n]	Colonlänge [cm]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
0	3	15.400	0.825	12.776	18.024	2
	5	16.200	0.825	13.576	18.824	2
	7	18.200	0.825	15.576	20.824	2
1	1	14.633	0.318	13.986	15.280	9
	3	13.011	0.318	12.364	13.658	9
	5	11.489	0.318	10.842	12.136	9
	7	11.156	0.318	10.509	11.803	9
3	1	12.244	0.327	11.574	12.915	9
	3	11.156	0.327	10.485	11.826	9
	5	8.538	0.347	7.826	9.249	8
	7	7.880	0.438	6.980	8.780	5
5	1	9.644	0.418	8.784	10.505	9
	3	9.144	0.418	8.284	10.005	9
	5	9.660	0.397	8.843	10.477	10

Anhangtabelle 8: Mittelwerte der Colonlänge der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
0	1	4.547 *	0.592	0.000	2.952	6.142
	3	7.142 *	0.604	0.000	5.514	8.770
	5	8.448 *	0.626	0.000	6.762	10.133
1	0	-4.547 *	0.592	0.000	-6.142	-2.952
	3	2.595 *	0.329	0.000	1.709	3.482
	5	3.901 *	0.353	0.000	2.950	4.852
3	0	-7.142 *	0.604	0.000	-8.770	-5.514
	1	-2.595 *	0.329	0.000	-3.482	-1.709
	5	1.306 *	0.355	0.002	0.350	2.261
5	0	-8.448 *	0.626	0.000	-10.133	-6.762
	1	-3.901 *	0.353	0.000	-4.852	-2.950
	3	-1.306 *	0.355	0.002	-2.261	-0.350

Anhangtabelle 9: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse der Colonlänge. Die Überlebensdauer jedes Tieres wurde als Covariate in die Berechnung einbezogen.

DSS-Konzentration [%]	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
0	3	5	-0.800	1.166	1.000	-6.464	4.864
		7	-2.800	1.166	0.287	-8.464	2.864
	5	3	0.800	1.166	1.000	-4.864	6.464
		7	-2.000	1.166	0.555	-7.664	3.664
	7	3	2.800	1.166	0.287	-2.864	8.464
		5	2.000	1.166	0.555	-3.664	7.664
1	1	3	1.622 *	0.449	0.006	0.359	2.886
		5	3.144 *	0.449	0.000	1.881	4.408
		7	3.478 *	0.449	0.000	2.214	4.741
	3	1	-1.622 *	0.449	0.006	-2.886	-0.359
		5	1.522 *	0.449	0.011	0.259	2.786
		7	1.856 *	0.449	0.001	0.592	3.119
	5	1	-3.144 *	0.449	0.000	-4.408	-1.881
		3	-1.522 *	0.449	0.011	-2.786	-0.259
		7	0.333	0.449	1.000	-0.930	1.597
	7	1	-3.478 *	0.449	0.000	-4.741	-2.214
		3	-1.856 *	0.449	0.001	-3.119	-0.592
		5	-0.333	0.449	1.000	-1.597	0.930
3	1	3	1.089	0.462	0.156	-0.227	2.405
		5	3.707 *	0.476	0.000	2.351	5.063
		7	4.364 *	0.547	0.000	2.808	5.921
	3	1	-1.089	0.462	0.156	-2.405	0.227
		5	2.618 *	0.476	0.000	1.262	3.974
		7	3.276 *	0.547	0.000	1.719	4.832
	5	1	-3.707 *	0.476	0.000	-5.063	-2.351
		3	-2.618 *	0.476	0.000	-3.974	-1.262
		7	0.658	0.559	1.000	-0.934	2.249
	7	1	-4.364 *	0.547	0.000	-5.921	-2.808
		3	-3.276 *	0.547	0.000	-4.832	-1.719
		5	-0.658	0.559	1.000	-2.249	0.934
5	1	3	0.500	0.591	1.000	-1.017	2.017
		5	-0.011	0.576	1.000	-1.494	1.463
	3	1	-0.500	0.591	1.000	-2.017	1.017
		5	-0.516	0.576	1.000	-1.994	0.963
	5	1	0.016	0.576	1.000	-1.463	1.494
		3	0.516	0.576	1.000	-0.963	1.994

Anhangtabelle 10: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse der Colonlänge unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

7.4 Disease Activity Index

DSS-Konzentration [%]	DAI	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	0.010	0.212	-0.412	0.432	6
1	0.185	0.087	0.013	0.357	36
3	1.161	0.089	0.984	1.338	34
5	0.987	0.100	0.789	1.186	27

Anhangtabelle 11: Mittelwerte der Disease Activity Index der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	Zyklen [n]	DAI	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
0	3	0.030	0.017	-0.025	0.085	2
	5	0.000	0.017	-0.055	0.055	2
	7	0.000	0.017	-0.055	0.055	2
1	1	0.024	0.058	-0.094	0.143	9
	3	0.038	0.058	-0.081	0.156	9
	5	0.407	0.058	0.288	0.525	9
	7	0.270	0.058	0.151	0.389	9
3	1	0.198	0.131	-0.070	0.466	9
	3	1.068	0.131	0.800	1.336	9
	5	1.470	0.131	1.202	1.738	9
	7	2.123	0.149	1.819	2.427	7
5	1	1.157	0.132	0.885	1.428	9
	3	1.046	0.132	0.774	1.317	9
	5	0.760	0.132	0.489	1.031	9

Anhangtabelle 12: Mittelwerte der Disease Activity Index der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
0	1	-0.175	0.230	1.000	-0.793	0.443
	3	-1.151 *	0.230	0.000	-1.772	-0.531
	5	-0.977 *	0.235	0.000	-1.610	-0.345
1	0	0.175	0.230	1.000	-0.443	0.793
	3	-0.976 *	0.124	0.000	-1.312	-0.641
	5	-0.803 *	0.133	0.000	-1.159	-0.446
3	0	1.151 *	0.230	0.000	0.531	1.772
	1	0.976 *	0.124	0.000	0.641	1.312
	5	0.174	0.134	1.000	-0.187	0.535
5	0	0.977 *	0.235	0.000	0.345	1.610
	1	0.803 *	0.133	0.000	0.446	1.159
	3	-0.174	0.134	1.000	-0.535	0.187

Anhangtabelle 13: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse des DAI der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
0	3	5	0.030	0.024	0.924	-0.089	0.149
		7	0.030	0.024	0.924	-0.089	0.149
	5	3	-0.030	0.024	0.924	-0.149	0.089
		7	0.000	0.024	1.000	-0.119	0.119
	7	3	-0.030	0.024	0.924	-0.149	0.089
		5	0.000	0.024	1.000	-0.119	0.119
1	1	3	-0.013	0.082	1.000	-0.245	0.218
		5	-0.382 *	0.082	0.000	-0.614	-0.151
		7	-0.246 *	0.082	0.033	-0.477	-0.014
	3	1	0.013	0.082	1.000	-0.218	0.245
		5	-0.369 *	0.082	0.001	-0.600	-0.137
		7	-0.232 *	0.082	0.049	-0.464	-0.001
	5	1	0.382 *	0.082	0.000	0.151	0.614
		3	0.369 *	0.082	0.001	0.137	0.600
		7	0.137	0.082	0.641	-0.095	0.368
	7	1	0.246 *	0.082	0.033	0.014	0.477
		3	0.232 *	0.082	0.049	0.001	0.464
		5	-0.137	0.082	0.641	-0.368	0.095
3	1	3	-0.870 *	0.186	0.000	-1.394	-0.346
		5	-1.272 *	0.186	0.000	-1.797	-0.748
		7	-1.925 *	0.198	0.000	-2.486	-1.364
	3	1	0.870 *	0.186	0.000	0.346	1.394
		5	-0.402	0.186	0.230	-0.927	0.122
		7	-1.055 *	0.198	0.000	-1.616	-0.494
	5	1	1.272 *	0.186	0.000	0.748	1.797
		3	0.402	0.186	0.230	-0.122	0.927
		7	-0.653 *	0.198	0.015	-1.213	-0.092
	7	1	1.925 *	0.198	0.000	1.364	2.486
		3	1.055 *	0.198	0.000	0.494	1.616
		5	0.653 *	0.198	0.015	0.092	1.213
5	1	3	0.111	0.186	1.000	-0.368	0.590
		5	0.397	0.186	0.130	-0.082	0.875
	3	1	-0.111	0.186	1.000	-0.590	0.368
		5	0.286	0.186	0.414	-0.193	0.764
	5	1	-0.397	0.186	0.130	-0.875	0.082
		3	-0.286	0.186	0.414	-0.764	0.193

Anhangtabelle 14: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse des DAI der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

7.5 Histologischer Entzündungsscore

Lokalisation	DSS-Konzentration [%]	Entzündungs-score	Standard-fehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Unter-grenze	Ober-grenze	
Colon ascendens	1	0.333	0.103	0.128	0.539	36
	3	0.656	0.110	0.438	0.874	32
	5	0.923	0.122	0.681	1.165	26
Colon transversum	1	0.556	0.120	0.317	0.794	36
	3	1.094	0.127	0.841	1.346	32
	5	1.308	0.141	1.027	1.588	26
Colon descendens	1	0.917	0.118	0.683	1.150	36
	3	1.625	0.125	1.377	1.873	32
	5	1.731	0.138	1.456	2.006	26
Colon sigmoideum	1	1.444	0.135	1.176	1.713	36
	3	2.125	0.143	1.840	2.410	32
	5	2.154	0.159	1.838	2.470	26

Anhangtabelle 15: Mittelwerte des histologischen Entzündungsscores der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	Zyklen [n]	Entzündungs-score	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
Colon ascendens	1	0.000	0.083	-0.170	0.170	9
	3	0.000	0.083	-0.170	0.170	9
	5	0.333	0.083	0.164	0.503	9
	7	1.000	0.083	0.830	1.170	9
Colon transversum	1	0.000	0.162	-0.330	0.330	9
	3	0.333	0.162	0.003	0.663	9
	5	0.667	0.162	0.337	0.997	9
	7	1.222	0.162	0.892	1.552	9
Colon descendens	1	0.111	0.173	-0.242	0.464	9
	3	0.778	0.173	0.424	1.131	9
	5	1.333	0.173	0.980	1.687	9
	7	1.444	0.173	1.091	1.798	9
Colon sigmoideum	1	0.444	0.192	0.052	0.836	9
	3	1.000	0.192	0.608	1.392	9
	5	2.111	0.192	1.719	2.503	9
	7	2.222	0.192	1.830	2.614	9

Anhangtabelle 16: Mittelwerte des histologischen Entzündungsscores der Tiere, die DSS 1% erhielten unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon und der Verabreichungsdauer.

Lokalisation	Zyklen [n]	Entzündungs- score	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
Colon ascendens	1	0.111	0.154	-0.203	0.426	9
	3	0.556	0.154	0.241	0.870	9
	5	0.500	0.163	0.166	0.834	8
	7	1.833	0.188	1.448	2.219	6
Colon transversum	1	0.333	0.181	-0.037	0.703	9
	3	1.111	0.181	0.741	1.481	9
	5	1.000	0.192	0.608	1.392	8
	7	2.333	0.221	1.880	2.786	6
Colon descendens	1	0.889	0.176	0.528	1.250	9
	3	1.778	0.176	1.417	2.139	9
	5	1.625	0.187	1.242	2.008	8
	7	2.500	0.216	2.058	2.942	6
Colon sigmoideum	1	1.444	0.209	1.015	1.873	9
	3	2.333	0.209	1.904	2.762	9
	5	2.250	0.222	1.795	2.705	8
	7	2.667	0.257	2.141	3.192	6

Anhangtabelle 17: Mittelwerte des histologischen Entzündungsscores der Tiere, die DSS 3% erhielten unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon und der Verabreichungsdauer.

Lokalisation	Zyklen [n]	Entzündungs- score	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
Colon ascendens	1	0.778	0.212	0.339	1.217	9
	3	1.111	0.212	0.672	1.550	9
	5	0.875	0.225	0.409	1.341	8
Colon transversum	1	0.889	0.169	0.538	1.239	9
	3	1.778	0.169	1.427	2.128	9
	5	1.250	0.180	0.878	1.622	8
Colon descendens	1	1.667	0.206	1.241	2.092	9
	3	1.889	0.206	1.463	2.315	9
	5	1.625	0.218	1.174	2.076	8
Colon sigmoideum	1	2.111	0.234	1.627	2.595	9
	3	2.222	0.234	1.738	2.706	9
	5	2.125	0.248	1.612	2.638	8

Anhangtabelle 18: Mittelwerte des histologischen Entzündungsscores der Tiere, die DSS 5% erhielten unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon und der Verabreichungsdauer.

Lokalisation	(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
Colon ascendens	1	3	-0.323	0.151	0.105	-0.691	0.045
		5	-0.590 *	0.160	0.001	-0.979	-0.200
	3	1	0.323	0.151	0.105	-0.045	0.691
		5	-0.267	0.164	0.321	-0.667	0.133
	5	1	0.590 *	0.160	0.001	0.200	0.979
		3	0.267	0.164	0.321	-0.133	0.667
Colon transversum	1	3	-0.538 *	0.175	0.008	-0.965	-0.112
		5	-0.752 *	0.185	0.000	-1.204	-0.300
	3	1	0.538 *	0.175	0.008	0.112	0.965
		5	-0.214	0.190	0.790	-0.677	0.250
	5	1	0.752 *	0.185	0.000	0.300	1.204
		3	0.214	0.190	0.790	-0.250	0.677
Colon descendens	1	3	-0.708 *	0.172	0.000	-1.127	-0.290
		5	-0.814 *	0.182	0.000	-1.257	-0.371
	3	1	0.708 *	0.172	0.000	0.290	1.127
		5	-0.106	0.186	1.000	-0.560	0.349
	5	1	0.814 *	0.182	0.000	0.371	1.257
		3	0.106	0.186	1.000	-0.349	0.560
Colon sigmoideum	1	3	-0.681 *	0.197	0.003	-1.161	-0.200
		5	-0.709 *	0.209	0.003	-1.218	-0.201
	3	1	0.681 *	0.197	0.003	0.200	1.161
		5	-0.029	0.214	1.000	-0.551	0.493
	5	1	0.709 *	0.209	0.003	0.201	1.218
		3	0.029	0.214	1.000	-0.493	0.551

Anhangtabelle 19: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Entzündungsscores der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
Colon ascendens	1	3	0.000	0.118	1.000	-0.331	0.331
		5	-0.333 *	0.118	0.048	-0.665	-0.002
		7	-1.000 *	0.118	0.000	-1.331	-0.669
	3	1	0.000	0.118	1.000	-0.331	0.331
		5	-0.333 *	0.118	0.048	-0.665	-0.002
		7	-1.000 *	0.118	0.000	-1.331	-0.669
	5	1	0.333 *	0.118	0.048	0.002	0.665
		3	0.333 *	0.118	0.048	0.002	0.665
		7	-0.667 *	0.118	0.000	-0.998	-0.335
	7	1	1.000 *	0.118	0.000	0.669	1.331
		3	1.000 *	0.118	0.000	0.669	1.331
		5	0.667 *	0.118	0.000	0.335	0.998
Colon transversum	1	3	-0.333	0.229	0.932	-0.978	0.311
		5	-0.667 *	0.229	0.039	-1.311	-0.022
		7	-1.222 *	0.229	0.000	-1.866	-0.578
	3	1	0.333	0.229	0.932	-0.311	0.978
		5	-0.333	0.229	0.932	-0.978	0.311
		7	-0.889 *	0.229	0.003	-1.533	-0.245
	5	1	0.667 *	0.229	0.039	0.022	1.311
		3	0.333	0.229	0.932	-0.311	0.978
		7	-0.556	0.229	0.127	-1.200	0.089
	7	1	1.222 *	0.229	0.000	0.578	1.866
		3	0.889 *	0.229	0.003	0.245	1.533
		5	0.556	0.229	0.127	-0.089	1.200
Colon descendens	1	3	-0.667	0.245	0.063	-1.357	0.023
		5	-1.222 *	0.245	0.000	-1.912	-0.532
		7	-1.333 *	0.245	0.000	-2.023	-0.643
	3	1	0.667	0.245	0.063	-0.023	1.357
		5	-0.556	0.245	0.183	-1.245	0.134
		7	-0.667	0.245	0.063	-1.357	0.023
	5	1	1.222 *	0.245	0.000	0.532	1.912
		3	0.556	0.245	0.183	-0.134	1.245
		7	-0.111	0.245	1.000	-0.801	0.579
	7	1	1.333 *	0.245	0.000	0.643	2.023
		3	0.667	0.245	0.063	-0.023	1.357
		5	0.111	0.245	1.000	-0.579	0.801
Colon sigmoideum	1	3	-0.556	0.272	0.297	-1.321	0.210
		5	-1.667 *	0.272	0.000	-2.432	-0.901
		7	-1.778 *	0.272	0.000	-2.543	-1.012
	3	1	0.556	0.272	0.297	-0.210	1.321

		5	-1.111 *	0.272	0.002	-1.877	-0.346
		7	-1.222 *	0.272	0.001	-1.988	-0.457
	5	1	1.667 *	0.272	0.000	0.901	2.432
		3	1.111 *	0.272	0.002	0.346	1.877
		7	-0.111	0.272	1.000	-0.877	0.654
	7	1	1.778 *	0.272	0.000	1.012	2.543
		3	1.222 *	0.272	0.001	0.457	1.988
		5	0.111	0.272	1.000	-0.654	0.877

Anhangtabelle 20: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Entzündungsscores der Tiere, die DSS 1% erhielten unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer und der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittel- werte (I-J)	Standard- fehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Unter- grenze	Ober- grenze
Colon ascendens	1	3	-0.444	0.217	0.301	-1.061	0.172
		5	-0.389	0.224	0.560	-1.024	0.247
		7	-1.722 *	0.243	0.000	-2.412	-1.033
	3	1	0.444	0.217	0.301	-0.172	1.061
		5	0.056	0.224	1.000	-0.580	0.691
		7	-1.278 *	0.243	0.000	-1.967	-0.588
	5	1	0.389	0.224	0.560	-0.247	1.024
		3	-0.056	0.224	1.000	-0.691	0.580
		7	-1.333 *	0.249	0.000	-2.040	-0.627
	7	1	1.722 *	0.243	0.000	1.033	2.412
		3	1.278 *	0.243	0.000	0.588	1.967
		5	1.333 *	0.249	0.000	0.627	2.040
Colon transver- sum	1	3	-0.778 *	0.255	0.030	-1.503	-0.053
		5	-0.667	0.263	0.103	-1.414	0.081
		7	-2.000 *	0.286	0.000	-2.811	-1.189
	3	1	0.778 *	0.255	0.030	0.053	1.503
		5	0.111	0.263	1.000	-0.636	0.859
		7	-1.222 *	0.286	0.001	-2.033	-0.411
	5	1	0.667	0.263	0.103	-0.081	1.414
		3	-0.111	0.263	1.000	-0.859	0.636
		7	-1.333 *	0.293	0.001	-2.164	-0.502
	7	1	2.000 *	0.286	0.000	1.189	2.811
		3	1.222 *	0.286	0.001	0.411	2.033
		5	1.333 *	0.293	0.001	0.502	2.164
Colon descendens	1	3	-0.889 *	0.249	0.008	-1.596	-0.182
		5	-0.736 *	0.257	0.047	-1.465	-0.007
		7	-1.611 *	0.279	0.000	-2.402	-0.820
	3	1	0.889 *	0.249	0.008	0.182	1.596
		5	0.153	0.257	1.000	-0.576	0.882
		7	-0.722	0.279	0.090	-1.513	0.068
	5	1	0.736 *	0.257	0.047	0.007	1.465
		3	-0.153	0.257	1.000	-0.882	0.576
		7	-0.875 *	0.285	0.029	-1.685	-0.065
	7	1	1.611 *	0.279	0.000	0.820	2.402
		3	0.722	0.279	0.090	-0.068	1.513
		5	0.875 *	0.285	0.029	0.065	1.685
Colon sigmoi- deum	1	3	-0.889 *	0.296	0.034	-1.730	-0.048
		5	-0.806	0.305	0.081	-1.672	0.061
		7	-1.222 *	0.331	0.006	-2.162	-0.282
	3	1	0.889 *	0.296	0.034	0.048	1.730
		5	0.083	0.305	1.000	-0.783	0.950

		7	-0.333	0.331	1.000	-1.274	0.607
	5	1	0.806	0.305	0.081	-0.061	1.672
		3	-0.083	0.305	1.000	-0.950	0.783
		7	-0.417	0.339	1.000	-1.380	0.547
	7	1	1.222 *	0.331	0.006	0.282	2.162
		3	0.333	0.331	1.000	-0.607	1.274
		5	0.417	0.339	1.000	-0.547	1.380

Anhangtabelle 21: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Entzündungsscores der Tiere, die DSS 3% erhielten unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer und der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
Colon ascendens	1	3	-0.333	0.300	0.834	-1.108	0.441
		5	-0.097	0.309	1.000	-0.896	0.701
	3	1	0.333	0.300	0.834	-0.441	1.108
		5	0.236	0.309	1.000	-0.563	1.035
	5	1	0.097	0.309	1.000	-0.701	0.896
		3	-0.236	0.309	1.000	-1.035	0.563
Colon transversum	1	3	-0.889 *	0.240	0.003	-1.508	-0.270
		5	-0.361	0.247	0.472	-0.999	0.277
	3	1	0.889 *	0.240	0.003	0.270	1.508
		5	0.528	0.247	0.131	-0.110	1.166
	5	1	0.361	0.247	0.472	-0.277	0.999
		3	-0.528	0.247	0.131	-1.166	0.110
Colon descendens	1	3	-0.222	0.291	1.000	-0.974	0.529
		5	0.042	0.300	1.000	-0.733	0.816
	3	1	0.222	0.291	1.000	-0.529	0.974
		5	0.264	0.300	1.000	-0.511	1.038
	5	1	-0.042	0.300	1.000	-0.816	0.733
		3	-0.264	0.300	1.000	-1.038	0.511
Colon sigmoideum	1	3	-0.111	0.331	1.000	-0.965	0.743
		5	-0.014	0.341	1.000	-0.894	0.866
	3	1	0.111	0.331	1.000	-0.743	0.965
		5	0.097	0.341	1.000	-0.783	0.977
	5	1	0.014	0.341	1.000	-0.866	0.894
		3	-0.097	0.341	1.000	-0.977	0.783

Anhangtabelle 22: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Entzündungsscores der Tiere, die DSS 5% erhielten unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer und der Lokalisation im Colon.

7.6 Histologischer Gewebeschadensscore

Lokalisation	DSS-Konzentration [%]	Gewebeschaden-score	Standard-fehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Unter-grenze	Ober-grenze	
Colon ascendens	1	0.000	0.000	0.000	0.000	36
	3	0.000	0.000	0.000	0.000	32
	5	0.000	0.000	0.000	0.000	26
Colon transversum	1	0.028	0.074	-0.120	0.175	36
	3	0.281	0.079	0.125	0.438	32
	5	0.231	0.087	0.057	0.404	26
Colon descendens	1	0.111	0.127	-0.141	0.363	36
	3	0.781	0.135	0.514	1.049	32
	5	0.923	0.149	0.626	1.220	26
Colon sigmoideum	1	0.528	0.148	0.233	0.823	36
	3	1.313	0.157	1.000	1.625	32
	5	1.577	0.175	1.230	1.924	26

Anhangtabelle 23: Mittelwerte des histologischen Gewebeschadenscores der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	Zyklen [n]	Gewebeschaden-score	Standard-fehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Unter-grenze	Ober-grenze	
Colon ascendens	1	0.000	0.000	0.000	0.000	9
	3	0.000	0.000	0.000	0.000	9
	5	0.000	0.000	0.000	0.000	9
	7	0.000	0.000	0.000	0.000	9
Colon transversum	1	0.000	0.056	-0.113	0.113	9
	3	0.000	0.056	-0.113	0.113	9
	5	0.000	0.056	-0.113	0.113	9
	7	0.111	0.056	-0.002	0.224	9
Colon descendens	1	0.000	0.104	-0.212	0.212	9
	3	0.000	0.104	-0.212	0.212	9
	5	0.222	0.104	0.011	0.434	9
	7	0.222	0.104	0.011	0.434	9
Colon sigmoideum	1	0.222	0.237	-0.261	0.706	9
	3	0.111	0.237	-0.372	0.595	9
	5	0.889	0.237	0.405	1.372	9
	7	0.889	0.237	0.405	1.372	9

Anhangtabelle 24: Mittelwerte des histologischen Gewebeschadenscores der Tiere, die DSS 1% erhielten unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon und der Verabreichungsdauer.

Lokalisation	Zyklen [n]	Gewebeschaden-score	Standard-fehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Unter-grenze	Ober-grenze	
Colon ascendens	1	0.000	0.000	0.000	0.000	9
	3	0.000	0.000	0.000	0.000	9
	5	0.000	0.000	0.000	0.000	8
	7	0.000	0.000	0.000	0.000	6
Colon transversum	1	0.000	0.135	-0.277	0.277	9
	3	0.111	0.135	-0.166	0.388	9
	5	0.125	0.143	-0.168	0.418	8
	7	1.167	0.165	0.828	1.506	6
Colon descendens	1	0.000	0.226	-0.463	0.463	9
	3	0.667	0.226	0.204	1.130	9
	5	0.875	0.240	0.384	1.366	8
	7	2.000	0.277	1.433	2.567	6
Colon sigmoideum	1	0.444	0.248	-0.064	0.953	9
	3	1.333	0.248	0.824	1.842	9
	5	1.500	0.264	0.960	2.040	8
	7	2.333	0.304	1.710	2.957	6

Anhangtabelle 25: Mittelwerte des histologischen Gewebeschadenscores der Tiere, die DSS 3% erhielten unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon und der Verabreichungsdauer.

Lokalisation	Zyklen [n]	Gewebeschaden-score	Standard-fehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Unter-grenze	Ober-grenze	
Colon ascendens	1	0.000	0.000	0.000	0.000	9
	3	0.000	0.000	0.000	0.000	9
	5	0.000	0.000	0.000	0.000	8
Colon transversum	1	0.000	0.164	-0.339	0.339	9
	3	0.222	0.164	-0.117	0.561	9
	5	0.500	0.174	0.141	0.859	8
Colon descendens	1	0.556	0.309	-0.083	1.194	9
	3	1.000	0.309	0.361	1.639	9
	5	1.250	0.327	0.573	1.927	8
Colon sigmoideum	1	1.333	0.302	0.709	1.958	9
	3	1.333	0.302	0.709	1.958	9
	5	2.125	0.320	1.462	2.788	8

Anhangtabelle 26: Mittelwerte des histologischen Gewebeschadenscores der Tiere, die DSS 5% erhielten unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon und der Verabreichungsdauer.

Lokalisation	(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
Colon ascendens	1	3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	3	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	5	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
Colon transversum	1	3	-0.253	0.108	0.064	-0.517	0.010
		5	-0.203	0.115	0.240	-0.483	0.077
	3	1	0.253	0.108	0.064	-0.010	0.517
		5	0.050	0.118	1.000	-0.236	0.337
	5	1	0.203	0.115	0.240	-0.077	0.483
		3	-0.050	0.118	1.000	-0.337	0.236
Colon descendens	1	3	-0.670 *	0.185	0.001	-1.122	-0.218
		5	-0.812 *	0.196	0.000	-1.290	-0.333
	3	1	0.670 *	0.185	0.001	0.218	1.122
		5	-0.142	0.201	1.000	-0.633	0.349
	5	1	0.812 *	0.196	0.000	0.333	1.290
		3	0.142	0.201	1.000	-0.349	0.633
Colon sigmoideum	1	3	-0.785 *	0.216	0.001	-1.313	-0.257
		5	-1.049 *	0.229	0.000	-1.608	-0.490
	3	1	0.785 *	0.216	0.001	0.257	1.313
		5	-0.264	0.235	0.791	-0.838	0.309
	5	1	1.049 *	0.229	0.000	0.490	1.608
		3	0.264	0.235	0.791	-0.309	0.838

Anhangtabelle 27: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Gewebescores der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittel- werte (I-J)	Standard- fehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Unter- grenze	Ober- grenze
Colon ascendens	1	3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		7	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	3	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		7	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	5	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		7	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	7	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
Colon transver- sum	1	3	0.000	0.079	1.000	-0.221	0.221
		5	0.000	0.079	1.000	-0.221	0.221
		7	-0.111	0.079	1.000	-0.332	0.110
	3	1	0.000	0.079	1.000	-0.221	0.221
		5	0.000	0.079	1.000	-0.221	0.221
		7	-0.111	0.079	1.000	-0.332	0.110
	5	1	0.000	0.079	1.000	-0.221	0.221
		3	0.000	0.079	1.000	-0.221	0.221
		7	-0.111	0.079	1.000	-0.332	0.110
	7	1	0.111	0.079	1.000	-0.110	0.332
		3	0.111	0.079	1.000	-0.110	0.332
		5	0.111	0.079	1.000	-0.110	0.332
Colon descendens	1	3	0.000	0.147	1.000	-0.413	0.413
		5	-0.222	0.147	0.842	-0.636	0.191
		7	-0.222	0.147	0.842	-0.636	0.191
	3	1	0.000	0.147	1.000	-0.413	0.413
		5	-0.222	0.147	0.842	-0.636	0.191
		7	-0.222	0.147	0.842	-0.636	0.191
	5	1	0.222	0.147	0.842	-0.191	0.636
		3	0.222	0.147	0.842	-0.191	0.636
		7	0.000	0.147	1.000	-0.413	0.413
	7	1	0.222	0.147	0.842	-0.191	0.636
		3	0.222	0.147	0.842	-0.191	0.636
		5	0.000	0.147	1.000	-0.413	0.413
Colon sigmoi- deum	1	3	0.111	0.336	1.000	-0.833	1.055
		5	-0.667	0.336	0.334	-1.611	0.277
		7	-0.667	0.336	0.334	-1.611	0.277
	3	1	-0.111	0.336	1.000	-1.055	0.833
		5	-0.778	0.336	0.162	-1.722	0.166

		7	-0.778	0.336	0.162	-1.722	0.166
	5	1	0.667	0.336	0.334	-0.277	1.611
		3	0.778	0.336	0.162	-0.166	1.722
		7	0.000	0.336	1.000	-0.944	0.944
	7	1	0.667	0.336	0.334	-0.277	1.611
		3	0.778	0.336	0.162	-0.166	1.722
		5	0.000	0.336	1.000	-0.944	0.944

Anhangtabelle 28: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Gewebeschadenscores der Tiere, die DSS 1% erhielten unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer und der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
Colon ascendens	1	3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		7	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	3	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		7	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	5	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		7	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	7	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
Colon transversum	1	3	-0.111	0.191	1.000	-0.653	0.431
		5	-0.125	0.197	1.000	-0.684	0.434
		7	-1.167 *	0.214	0.000	-1.773	-0.560
	3	1	0.111	0.191	1.000	-0.431	0.653
		5	-0.014	0.197	1.000	-0.573	0.545
		7	-1.056 *	0.214	0.000	-1.662	-0.449
	5	1	0.125	0.197	1.000	-0.434	0.684
		3	0.014	0.197	1.000	-0.545	0.573
		7	-1.042 *	0.219	0.000	-1.663	-0.420
	7	1	1.167 *	0.214	0.000	0.560	1.773
		3	1.056 *	0.214	0.000	0.449	1.662
		5	1.042 *	0.219	0.000	0.420	1.663
Colon descendens	1	3	-0.667	0.320	0.278	-1.574	0.241
		5	-0.875	0.329	0.078	-1.810	0.060
		7	-2.000 *	0.357	0.000	-3.015	-0.985
	3	1	0.667	0.320	0.278	-0.241	1.574
		5	-0.208	0.329	1.000	-1.144	0.727
		7	-1.333 *	0.357	0.005	-2.348	-0.319
	5	1	0.875	0.329	0.078	-0.060	1.810
		3	0.208	0.329	1.000	-0.727	1.144
		7	-1.125 *	0.366	0.028	-2.165	-0.085
	7	1	2.000 *	0.357	0.000	0.985	3.015
		3	1.333 *	0.357	0.005	0.319	2.348
		5	1.125 *	0.366	0.028	0.085	2.165
Colon sigmoideum	1	3	-0.889	0.351	0.104	-1.886	0.109
		5	-1.056 *	0.362	0.042	-2.084	-0.027
		7	-1.889 *	0.393	0.000	-3.004	-0.774
	3	1	0.889	0.351	0.104	-0.109	1.886
		5	-0.167	0.362	1.000	-1.195	0.862

		7	-1.000	0.393	0.100	-2.115	0.115
	5	1	1.056 *	0.362	0.042	0.027	2.084
		3	0.167	0.362	1.000	-0.862	1.195
		7	-0.833	0.403	0.287	-1.976	0.309
	7	1	1.889 *	0.393	0.000	0.774	3.004
		3	1.000	0.393	0.100	-0.115	2.115
		5	0.833	0.403	0.287	-0.309	1.976

Anhangtabelle 29: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Gewebeschadenscores der Tiere, die DSS 3% erhielten unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer und der Lokalisation im Colon.

Lokalisation	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
Colon ascendens	1	3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	3	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		5	0.000	0.000	.	0.000	0.000
	5	1	0.000	0.000	.	0.000	0.000
		3	0.000	0.000	.	0.000	0.000
Colon transversum	1	3	-0.222	0.232	1.000	-0.820	0.376
		5	-0.500	0.239	0.143	-1.117	0.117
	3	1	0.222	0.232	1.000	-0.376	0.820
		5	-0.278	0.239	0.770	-0.894	0.339
	5	1	0.500	0.239	0.143	-0.117	1.117
		3	0.278	0.239	0.770	-0.339	0.894
Colon descendens	1	3	-0.444	0.437	0.958	-1.572	0.683
		5	-0.694	0.450	0.409	-1.856	0.467
	3	1	0.444	0.437	0.958	-0.683	1.572
		5	-0.250	0.450	1.000	-1.412	0.912
	5	1	0.694	0.450	0.409	-0.467	1.856
		3	0.250	0.450	1.000	-0.912	1.412
Colon sigmoideum	1	3	0.000	0.427	1.000	-1.103	1.103
		5	-0.792	0.440	0.256	-1.928	0.345
	3	1	0.000	0.427	1.000	-1.103	1.103
		5	-0.792	0.440	0.256	-1.928	0.345
	5	1	0.792	0.440	0.256	-0.345	1.928
		3	0.792	0.440	0.256	-0.345	1.928

Anhangtabelle 30: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des histologischen Gewebeschadenscores der Tiere, die DSS 5% erhielten unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer und der Lokalisation im Colon.

7.7 DSS-Dosis

DSS-Konzentration [%]	Schwellendosis [mg/g KG]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Obergrenze	Untergrenze	
1	15.256	1.531	12.220	18.292	36
3	46.355	1.531	43.319	49.391	36
5	62.380	1.531	59.344	65.416	36

Anhangtabelle 31: Mittelwerte der innerhalb der ersten sieben Versuchstage aufgenommenen kumulativen DSS-Dosis der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	Zyklen [n]	DSS-Dosis [mg/g]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
1	1	12.088	0.817	10.423	13.752	9
	3	44.503	0.817	42.838	46.167	9
	5	69.245	0.817	67.580	70.910	9
	7	88.688	0.817	87.023	90.353	9
3	1	40.035	9.618	20.444	59.625	9
	3	121.793	9.618	102.202	141.383	9
	5	206.428	9.618	186.838	226.018	9
	7	238.826	9.618	219.236	258.417	9
5	1	62.195	16.634	28.354	96.036	9
	3	144.960	16.634	111.119	178.801	9
	5	180.198	11.762	156.268	204.127	18

Anhangtabelle 32: Mittelwerte der aufgenommenen kumulativen DSS-Dosis der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standard- fehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
1	3	-31.099 *	2.165	0.000	-36.368	-25.831
	5	-47.125 *	2.165	0.000	-52.393	-41.856
3	1	31.099 *	2.165	0.000	25.831	36.368
	5	-16.025 *	2.165	0.000	-21.293	-10.757
5	1	47.125 *	2.165	0.000	41.856	52.393
	3	16.025 *	2.165	0.000	10.757	21.293

Anhangtabelle 33: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse der innerhalb der ersten sieben Versuchstage aufgenommenen kumulativen DSS-Dosis der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
1	1	3	-32.415 *	1.156	0.000	-35.665	-29.165
		5	-57.158 *	1.156	0.000	-60.408	-53.907
		7	-76.600 *	1.156	0.000	-79.851	-73.350
	3	1	32.415 *	1.156	0.000	29.165	35.665
		5	-24.743 *	1.156	0.000	-27.993	-21.492
		7	-44.185 *	1.156	0.000	-47.436	-40.935
	5	1	57.158 *	1.156	0.000	53.907	60.408
		3	24.743 *	1.156	0.000	21.492	27.993
		7	-19.443 *	1.156	0.000	-22.693	-16.192
	7	1	76.600 *	1.156	0.000	73.350	79.851
		3	44.185 *	1.156	0.000	40.935	47.436
		5	19.443 *	1.156	0.000	16.192	22.693
3	1	3	-81.758 *	13.601	0.000	-120.009	-43.507
		5	-166.393 *	13.601	0.000	-204.645	-128.142
		7	-198.792 *	13.601	0.000	-237.043	-160.540
	3	1	81.758 *	13.601	0.000	43.507	120.009
		5	-84.635 *	13.601	0.000	-122.887	-46.384
		7	-117.034 *	13.601	0.000	-155.285	-78.782
	5	1	166.393 *	13.601	0.000	128.142	204.645
		3	84.635 *	13.601	0.000	46.384	122.887
		7	-32.398	13.601	0.140	-70.650	5.853
	7	1	198.792 *	13.601	0.000	160.540	237.043
		3	117.034 *	13.601	0.000	78.782	155.285
		5	32.398	13.601	0.140	-5.853	70.650
5	1	3	-82.765 *	23.523	0.004	-142.096	-23.434
		5	-118.003 *	20.372	0.000	-169.385	-66.621
	3	1	82.765 *	23.523	0.004	23.434	142.096
		5	-35.238	20.372	0.279	-86.620	16.144
	5	1	118.003 *	20.372	0.000	66.621	169.385
		3	35.238	20.372	0.279	-16.144	86.620

Anhangtabelle 34: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) der aufgenommenen kumulativen DSS-Dosis der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

7.8 Milz

DSS-Konzentration [%]	Milzgewicht [g]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	0.115	0.012	0.090	0.140	6
1	0.123	0.005	0.112	0.133	36
3	0.158	0.006	0.147	0.169	31
5	0.135	0.006	0.124	0.146	31

Anhangtabelle 35: Mittelwerte des Milzgewichtes der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	Zyklen [n]	Milzgewicht [g]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
0	3	0.090	0.021	0.023	0.157	2
	5	0.105	0.021	0.038	0.172	2
	7	0.150	0.021	0.083	0.217	2
1	1	0.102	0.009	0.083	0.121	9
	3	0.123	0.009	0.104	0.142	9
	5	0.122	0.009	0.103	0.141	9
	7	0.142	0.009	0.123	0.161	9
3	1	0.121	0.010	0.101	0.141	9
	3	0.139	0.010	0.119	0.159	9
	5	0.174	0.010	0.153	0.195	8
	7	0.198	0.013	0.171	0.225	5
5	1	0.141	0.011	0.118	0.164	9
	3	0.142	0.011	0.119	0.165	9
	5	0.122	0.009	0.102	0.141	13

Anhangtabelle 36: Mittelwerte des Milzgewichtes der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
0	1	-0.008	0.013	1.000	-0.044	0.029
	3	-0.043 *	0.014	0.013	-0.080	-0.006
	5	-0.020	0.014	0.864	-0.056	0.017
1	0	0.008	0.013	1.000	-0.029	0.044
	3	-0.035 *	0.008	0.000	-0.056	-0.015
	5	-0.012	0.007	0.596	-0.033	0.008
3	0	0.043 *	0.014	0.013	0.006	0.080
	1	0.035 *	0.008	0.000	0.015	0.056
	5	0.023 *	0.008	0.026	0.002	0.044
5	0	0.020	0.014	0.864	-0.017	0.056
	1	0.012	0.007	0.596	-0.008	0.033
	3	-0.023 *	0.008	0.026	-0.044	-0.002

Anhangtabelle 37: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse des Milzgewichtes der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
0	3	5	-0.015	0.030	1.000	-0.159	0.129
		7	-0.060	0.030	0.410	-0.204	0.084
	5	3	0.015	0.030	1.000	-0.129	0.159
		7	-0.045	0.030	0.682	-0.189	0.099
	7	3	0.060	0.030	0.410	-0.084	0.204
		5	0.045	0.030	0.682	-0.099	0.189
1	1	3	-0.021	0.013	0.716	-0.058	0.016
		5	-0.020	0.013	0.836	-0.057	0.017
		7	-0.040 *	0.013	0.029	-0.077	-0.003
	3	1	0.021	0.013	0.716	-0.016	0.058
		5	0.001	0.013	1.000	-0.036	0.038
		7	-0.019	0.013	0.972	-0.056	0.018
	5	1	0.020	0.013	0.836	-0.017	0.057
		3	-0.001	0.013	1.000	-0.038	0.036
		7	-0.020	0.013	0.836	-0.057	0.017
	7	1	0.040 *	0.013	0.029	0.003	0.077
		3	0.019	0.013	0.972	-0.018	0.056
		5	0.020	0.013	0.836	-0.017	0.057
3	1	3	-0.018	0.014	1.000	-0.057	0.021
		5	-0.053 *	0.014	0.006	-0.093	-0.012
		7	-0.077 *	0.016	0.000	-0.123	-0.030
	3	1	0.018	0.014	1.000	-0.021	0.057
		5	-0.035	0.014	0.125	-0.075	0.006
		7	-0.059 *	0.016	0.007	-0.106	-0.013
	5	1	0.053 *	0.014	0.006	0.012	0.093
		3	0.035	0.014	0.125	-0.006	0.075
		7	-0.024	0.017	0.942	-0.072	0.023
	7	1	0.077 *	0.016	0.000	0.030	0.123
		3	0.059 *	0.016	0.007	0.013	0.106
		5	0.024	0.017	0.942	-0.023	0.072
5	1	3	-0.001	0.016	1.000	-0.042	0.039
		5	0.020	0.015	0.574	-0.018	0.057
	3	1	0.001	0.016	1.000	-0.039	0.042
		5	0.021	0.015	0.504	-0.017	0.058
	5	1	-0.020	0.015	0.574	-0.057	0.018
		3	-0.021	0.015	0.504	-0.058	0.017

Anhangtabelle 38: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des Milzgewichtes der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

7.9 Trinkwasserkonsum

DSS-Konzentration [%]	Trinkmenge [ml]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	9.528	0.315	8.904	10.152	6
1	8.310	0.129	8.055	8.565	36
3	8.627	0.129	8.372	8.882	36
5	7.673	0.129	7.418	7.928	36

Anhangtabelle 39: Mittelwerte des Trinkwasserkonsums (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	Zyklen [n]	Trinkmenge [ml]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
0	3	8.750	0.000	8.750	8.750	2
	5	10.390	0.000	10.390	10.390	2
	7	9.444	0.000	9.444	9.444	2
1	1	7.358	0.163	7.026	7.690	9
	3	8.879	0.163	8.547	9.210	9
	5	8.759	0.163	8.428	9.091	9
	7	8.245	0.163	7.913	8.577	9
3	1	7.654	0.179	7.290	8.019	9
	3	8.251	0.179	7.887	8.615	9
	5	9.280	0.179	8.916	9.645	9
	7	9.323	0.179	8.959	9.688	9
5	1	7.747	0.224	7.292	8.202	9
	3	7.735	0.224	7.281	8.190	9
	5	7.605	0.158	7.283	7.926	18

Anhangtabelle 40: Mittelwerte des Trinkwasserkonsums (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Zeit.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
0	1	1.218 *	0.340	0.003	0.304	2.132
	3	0.901	0.340	0.056	-0.013	1.815
	5	1.855 *	0.340	0.000	0.941	2.769
1	0	-1.218 *	0.340	0.003	-2.132	-0.304
	3	-0.317	0.182	0.505	-0.806	0.172
	5	0.637 *	0.182	0.004	0.149	1.126
3	0	-0.901	0.340	0.056	-1.815	0.013
	1	0.317	0.182	0.505	-0.172	0.806
	5	0.954 *	0.182	0.000	0.466	1.443
5	0	-1.855 *	0.340	0.000	-2.769	-0.941
	1	-0.637 *	0.182	0.004	-1.126	-0.149
	3	-0.954 *	0.182	0.000	-1.443	-0.466

Anhangtabelle 41: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse des Trinkwasserkonsums (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
0	3	5	-1.640	0.000	.	-1.640	-1.640
		7	-0.694	0.000	.	-0.694	-0.694
	5	3	1.640	0.000	.	1.640	1.640
		7	0.946	0.000	.	0.946	0.946
	7	3	0.694	0.000	.	0.694	0.694
		5	-0.946	0.000	.	-0.946	-0.946
1	1	3	-1.521 *	0.230	0.000	-2.168	-0.873
		5	-1.401 *	0.230	0.000	-2.049	-0.754
		7	-0.887 *	0.230	0.003	-1.535	-0.240
	3	1	1.521 *	0.230	0.000	0.873	2.168
		5	0.119	0.230	1.000	-0.528	0.767
		7	0.633	0.230	0.058	-0.014	1.281
	5	1	1.401 *	0.230	0.000	0.754	2.049
		3	-0.119	0.230	1.000	-0.767	0.528
		7	0.514	0.230	0.196	-0.133	1.162
	7	1	0.887 *	0.230	0.003	0.240	1.535
		3	-0.633	0.230	0.058	-1.281	0.014
		5	-0.514	0.230	0.196	-1.162	0.133
3	1	3	-0.597	0.253	0.148	-1.308	0.115
		5	-1.626 *	0.253	0.000	-2.338	-0.914
		7	-1.669 *	0.253	0.000	-2.380	-0.957
	3	1	0.597	0.253	0.148	-0.115	1.308
		5	-1.029 *	0.253	0.002	-1.741	-0.318
		7	-1.072 *	0.253	0.001	-1.784	-0.361
	5	1	1.626 *	0.253	0.000	0.914	2.338
		3	1.029 *	0.253	0.002	0.318	1.741
		7	-0.043	0.253	1.000	-0.754	0.669
	7	1	1.669 *	0.253	0.000	0.957	2.380
		3	1.072 *	0.253	0.001	0.361	1.784
		5	0.043	0.253	1.000	-0.669	0.754
5	1	3	0.012	0.316	1.000	-0.786	0.809
		5	0.142	0.274	1.000	-0.548	0.833
	3	1	-0.012	0.316	1.000	-0.809	0.786
		5	0.131	0.274	1.000	-0.560	0.821
	5	1	-0.142	0.274	1.000	-0.833	0.548
		3	-0.131	0.274	1.000	-0.821	0.560

Anhangtabelle 42: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) des Trinkwasserkonsums (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

7.10 Urinausscheidung

DSS-Konzentration [%]	Urinmenge [ml]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
			Untergrenze	Obergrenze	
0	2.245	0.173	1.902	2.589	6
1	2.217	0.066	2.086	2.348	36
3	1.132	0.069	0.995	1.269	34
5	1.010	0.083	0.846	1.175	26

Anhangtabelle 43: Mittelwerte der Urinausscheidung (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	Zyklen [n]	Urinmenge [ml]	Standardfehler	95% Konfidenzintervall		Fallzahl [n]
				Untergrenze	Obergrenze	
0	3					
	5					
	7					
1	1	1.911	0.086	1.735	2.086	9
	3	2.274	0.070	2.130	2.418	9
	5	2.304	0.067	2.168	2.440	9
	7	2.359	0.060	2.236	2.482	9
3	1	1.552	0.102	1.342	1.761	9
	3	1.511	0.078	1.350	1.671	9
	5	1.131	0.091	0.944	1.319	9
	7	0.353	0.100	0.148	0.557	7
5	1	0.750	0.123	0.496	1.005	9
	3	1.045	0.123	0.790	1.299	9
	5	0.884	0.130	0.614	1.154	8

Anhangtabelle 44: Mittelwerte der Urinausscheidung (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

(I) DSS-Konzentration [%]	(J) DSS-Konzentration [%]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
					Untergrenze	Obergrenze
0	1	0.028	0.186	1.000	-0.472	0.528
	3	1.113 *	0.182	0.000	0.623	1.604
	5	1.235 *	0.201	0.000	0.693	1.776
1	0	-0.028	0.186	1.000	-0.528	0.472
	3	1.085 *	0.096	0.000	0.827	1.343
	5	1.206 *	0.106	0.000	0.922	1.491
3	0	-1.113 *	0.182	0.000	-1.604	-0.623
	1	-1.085 *	0.096	0.000	-1.343	-0.827
	5	0.121	0.111	1.000	-0.179	0.421
5	0	-1.235 *	0.201	0.000	-1.776	-0.693
	1	-1.206 *	0.106	0.000	-1.491	-0.922
	3	-0.121	0.111	1.000	-0.421	0.179

Anhangtabelle 45: Ergebnisse der univariaten Varianzanalyse der Urinausscheidung (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen.

DSS-Konzentration [%]	(I) Zyklen [n]	(J) Zyklen [n]	Differenz der Mittelwerte (I-J)	Standardfehler	p	95% Konfidenzintervall der Differenz	
						Untergrenze	Obergrenze
0	3	5					
		7					
	5	3					
1	7	3					
		5					
		7					
	1	3	-0.364	0.130	0.054	-0.731	0.004
		5	-0.393 *	0.125	0.021	-0.744	-0.042
		7	-0.448 *	0.103	0.001	-0.738	-0.159
	3	1	0.364	0.130	0.054	-0.004	0.731
		5	-0.030	0.085	1.000	-0.270	0.210
		7	-0.085	0.094	1.000	-0.351	0.181
	5	1	0.393 *	0.125	0.021	0.042	0.744
		3	0.030	0.085	1.000	-0.210	0.270
		7	-0.055	0.091	1.000	-0.312	0.202
	7	1	0.448 *	0.103	0.001	0.159	0.738
		3	0.085	0.094	1.000	-0.181	0.351
		5	0.055	0.091	1.000	-0.202	0.312
3	1	3	0.041	0.114	1.000	-0.283	0.365
		5	0.420	0.163	0.090	-0.040	0.880
		7	1.199 *	0.168	0.000	0.724	1.674
	3	1	-0.041	0.114	1.000	-0.365	0.283
		5	0.379 *	0.131	0.043	0.008	0.750
		7	1.158 *	0.137	0.000	0.769	1.546
	5	1	-0.420	0.163	0.090	-0.880	0.040
		3	-0.379 *	0.131	0.043	-0.750	-0.008
		7	0.779 *	0.112	0.000	0.461	1.096
	7	1	-1.199 *	0.168	0.000	-1.674	-0.724
		3	-1.158 *	0.137	0.000	-1.546	-0.769
		5	-0.779 *	0.112	0.000	-1.096	-0.461
5	1	3	-0.294	0.173	0.311	-0.743	0.155
		5	-0.133	0.179	1.000	-0.597	0.330
	3	1	0.294	0.173	0.311	-0.155	0.743
		5	0.161	0.179	1.000	-0.303	0.625
	5	1	0.133	0.179	1.000	-0.330	0.597
		3	-0.161	0.179	1.000	-0.625	0.303

Anhangtabelle 46: Ergebnisse der Varianzanalyse (allgemeines lineares Modell) der Urinausscheidung (innerhalb von zwei Tagen) der verschiedenen Konzentrationsgruppen unter Berücksichtigung der Verabreichungsdauer.

8 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Matthias Siebeck für die Bereitstellung des Themas und die exzellente Betreuung. Seine Expertise und nahezu grenzenlose Geduld ermöglichten es mir, eigenständiges wissenschaftliches Arbeiten zu erlernen.

Ebenso danke ich Herrn Priv.-Doz. Philippe Khalil für die Unterstützung während der Vorbereitung und Durchführung der Versuche. Frau Dr. Véronique Weiler und ihren Mitarbeitern danke ich für die Anfertigung und Begutachtung der histologischen Schnittpräparate. Gleichmaßen möchte ich mich bei Herrn Dr. Heinz-Peter Scheuber und den Mitarbeitern der zentralen Versuchstierhaltung für die kompetente Beratung in tierschutzrechtlichen Angelegenheiten und die Versorgung der 114 Mäuse bedanken.

Meiner Lebensgefährtin Frau Dr. Daria Genzel, die mich stets in jeder Hinsicht unterstützt und motiviert hat, bin ich ebenfalls zu tiefstem Dank verpflichtet. Insbesondere während der Versuchsphase musste sie sicher zahlreiche Entbehrungen hinnehmen und hat mich dies bis zu heutigen Tage nicht wissen lassen.

Maßgeblich am Zustandekommen dieser Dissertation sind meine Eltern Dr. Peter Schnabel und Antje Schnabel beteiligt. Dank ihnen habe ich meinen Weg gefunden und durfte jene akademische Ausbildung genießen, von der sie sicher nicht dachten, daß ich sie einmal wählen würde.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Florian Philip Schnabel
Geburtstag: 14.01.1975
Geburtsort: München
Nationalität: Deutsch

Schul Ausbildung

09/1985 – 05/1995 Mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium, Gauting
Allgemeine Hochschulreife

Grundwehrdienst

04/1996 – 01/1997 GebSt/FmLehrBtl 8, Murnau

Studium

04/1999 - 10/2006 Ludwig-Maximilians-Universität, München
Studium der Humanmedizin

10/2006 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Approbation als Arzt

Berufliche Praxis

10/2005 - 02/2006 Asklepios Fachkliniken, München-Gauting
Tertial Innere Medizin

02/2006 - 05/2006 Krankenhaus München Schwabing, Kinderchirurgie
Tertial Chirurgie

05/2006 - 09/2006 Dr. von Haunersches Kinderspital, München
Tertial Pädiatrie

Seit 10/2007 Assistenzarzt Asklepios Fachkliniken München-Gauting
Abteilung allgemeine Pneumologie